

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202393185** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2024.07.01

(22) Дата подачи заявки
2022.05.16

(51) Int. Cl. *A61K 31/357* (2006.01)
A61K 31/366 (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01)
A61K 31/541 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

(54) **ПРОТИВОМАЛЯРИЙНЫЙ ЭНДОПЕРОКСИД ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ
МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКОГО СИНДРОМА**

(31) **63/202,036**

(32) **2021.05.24**

(33) **US**

(86) **PCT/US2022/072339**

(87) **WO 2022/251788 2022.12.01**

(71) Заявитель:

**ЗЕ СКРИППС РИСЕРЧ
ИНСТИТЮТ (US)**

(72) Изобретатель:

**Кремер Даниэль, Шао Сидя, Шульц
Петер Г., Боллонг Майкл Дж. (US)**

(74) Представитель:

Нилова М.И. (RU)

(57) В изобретении раскрыты способы применения противомаларийного эндопероксидного соединения, такого как артемизинин, для лечения субъекта, страдающего от миелодиспластических синдромов (MDS), и замедляющие или предупреждающие прогрессирования MDS у субъекта для развития острого миелоидного лейкоза (AML).

A1

202393185

202393185

A1

ПРОТИВОМАЛЯРИЙНЫЙ ЭНДОПЕРОКСИД ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКОГО СИНДРОМА

[0001] В настоящей заявке испрашивается приоритет по предварительной заявке на патент США № 63/202036, поданной 24 мая 2021 года, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] Миелодиспластические синдромы (МДС (MDS)) представляют собой расстройства клональных стволовых клеток, характеризующиеся неэффективным кроветворением, приводящим к цитопениям и увеличению количества бластных клеток. Приблизительно одна треть пациентов, страдающих от МДС (MDS), впоследствии прогрессируют до острого миелоидного лейкоза (ОМЛ (AML)). Достижения последних нескольких десятилетий выявили генетическую причину МДС (MDS): в настоящее время понятно то, что соматические мутации (например, TET2, RUNX1, DNMT3A) в гематopoэтических клетках-предшественниках (ГКП (HPC)) приводят к aberrантной регуляции гемопоэза. На сегодняшний день единственными одобренными Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA) лекарственными средствами для лечения МДС (MDS) являются перепрофилированные лекарственные средства при ОМЛ (AML), включая азацитидин и децитабин, которые способствуют эпигенетическим изменениям в клетках, приводящим к цитотоксичности.

[0003] Анемия поражает большинство пациентов, страдающих от МДС (MDS), что приводит к усталости, низкому качеству жизни и дестабилизации исходного сердечно-сосудистого заболевания. В результате пациентам, страдающим от МДС (MDS), как правило, необходимы постоянные переливания крови. Тем не менее, перегрузка железом вследствие трансфузионной зависимости также ассоциируется со снижением выживаемости и увеличением прогрессирования острого миелоидного лейкоза.

[0004] Последнее одобрение FDA США лекарственного средства для МДС (MDS) произошло в 2006 году с одобрением леналидомида для МДС (MDS) низкого или промежуточного риска с делецией 5q. До этого азацитидин и децитабин были одобрены в 2004 и 2005 годах, соответственно. Хотя эти лекарственные средства были прорывными и помогли продлить жизнь популяции пациентов, страдающих от МДС (MDS), они не являются лечебными для большинства пациентов, для которых рецидив заболевания почти неизбежен. Единственным известным лекарственным средством при МДС (MDS) является аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, но ее использование

ограничено более пожилым возрастом и сопутствующими заболеваниями типичных пациентов, страдающих от МДС (MDS).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0005] Настоящее раскрытие изобретения преодолевает эти недостатки терапии МДС (MDS) путем того, что предлагает в одном из вариантов осуществления изобретения способ лечения миелодиспластического синдрома (МДС (MDS)) у страдающего от него субъекта. Указанный способ включает введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества противомаларийного эндопероксидного соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

[0006] В еще одном варианте осуществления настоящего раскрытия изобретения предложен способ замедления или предупреждения развития лейкоза у субъекта, страдающего от миелодиспластического синдрома (МДС (MDS)). Указанный способ включает введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества противомаларийного эндопероксидного соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

[0007] В дополнительном варианте осуществления настоящего раскрытия изобретения также предложено противомаларийное эндопероксидное соединение или его фармацевтически приемлемая соль для лечения миелодиспластического синдрома (МДС (MDS)) у страдающего от него субъекта.

[0008] В еще одном варианте осуществления настоящего раскрытия изобретения предложено противомаларийное эндопероксидное соединение или его фармацевтически приемлемая соль для замедления или предупреждения развития лейкоза у субъекта, страдающего от миелодиспластического синдрома (МДС (MDS)).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0009] ФИГ. 1. Схема, изображающая препятствие на пути дифференцирования, обнаруживаемое при миелодиспластических синдромах, и действие на него эндопероксидных соединений.

[0010] ФИГ. 2. Высокопроизводительный многопараметрический анализ на основе проточной цитометрии для идентификации ингибиторов дифференцирования МДС (MDS) с использованием клеток MDS-L.

[0011] ФИГ. 3: Примеры противомаларийных эндопероксидных соединений представляют собой эффективные агенты, вызывающие дифференцирование в клетках MDS-L.

[0012] ФИГ. 4А – ФИГ. 4С. Истощение гема вызывает терминальное дифференцирование клеток MDS-L. А: Относительная индукция положительных в

отношении GlyA клеток MDS-L в ответ на обработку в течение 96 часов указанными концентрациями N-метилпротопорфирина (NMPP (NMPP)). В: Уровни гема в клетках MDS-L, обработанных указанными соединениями. С: Относительная индукция клеток, положительных в отношении GlyA, после 96-часовой обработки артемизоном и гемином.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0013] Настоящее раскрытие изобретения относится, в частности, к перепрофилированным лекарственным средствам, которые корректируют препятствие дифференцирования, обнаруживаемое при заболевании МДС (MDS), обеспечивая надлежащее обновление последующих линий кровяных клеток, что представляет собой эффект, который является недостижимым при помощи стандартных химиотерапевтических лекарственных средств. Более конкретно, настоящее раскрытие изобретения относится к терапевтическим применениям известных противомаларийных лекарственных средств в качестве эффективных индукторов дифференцирования в бластоподобных клетках МДС (MDS). Хотя настоящее раскрытие изобретения не связано с какой-либо конкретной теорией, полагают то, что индукция возникает путем механизма, вовлекающего истощение гема.

[0014] Неэффективный эритропоэз у пациентов, страдающих от МДС (MDS), прежде всего возникает в результате aberrантной регуляции терминального дифференцирования и созревания эритроцитов. Характерный репертуар ассоциированных с МДС (MDS) мутаций в ГКП (HPC) вызывает “препятствие дифференцирования” на более поздних стадиях дерева иерархического дифференцирования. Повторная стимуляция терминального дифференцирования и созревания эритроцитов в ответ на стимулы, вызывающие эритропоэз (такие как эритропоэтин (ЭПО (EPO))), в предшественниках эритроцитов лежит в основе функционального лечения МДС (MDS). С этой целью настоящее раскрытие изобретения идентифицирует перепрофилированные лекарственные средства в результате высокопроизводительного фенотипического скрининга для функционального спасения эритропоэза у пациентов, страдающих от МДС (MDS) (ФИГ. 1).

[0015] Определения

[0016] Если из контекста не ясно иное или в контексте не указано иное, то используемый в данном документе термин “соединение” является включающим в том смысле, что он охватывает соединение или его фармацевтически приемлемую соль.

[0017] В данном раскрытии изобретения “фармацевтически приемлемая соль” представляет собой фармацевтически приемлемую соль описанного в данном документе соединения с органической или неорганической кислотой или основанием. Типичные фармацевтически приемлемые соли включают, например, соли щелочных металлов, соли

щелочноземельных металлов, соли аммония, водорастворимые и нерастворимые в воде соли, такие как соли ацетат, амсонат (4,4-диаминоستيльбен-2,2-дисульфат), бензолсульфонат, бензоат, бикарбонат, бисульфат, битартрат, борат, бромид, бутират, кальций, эдетат кальция, камзилат, карбонат, хлорид, цитрат, клавулариаат, дихлоргидрат, эдетат, эдизилат, эстолат, эзилат, фумарат, глюцептат, глюконат, глутамат, гликоллиларсанилат, гексафторфосфат, гексилрезорцинат, гидрабафин, бромгидрат, хлоргидрат, гидроксинафтоат, йодид, изотионат, лактат, лактобионат, лаурат, малат, малеат, манделат, мезилат, метилбромид, метилнитрат, метилсульфат, мукат, напсилат, нитрат, соль N-метилглюкамин аммония, 3-гидрокси-2-нафтоат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат (1,1-метен-бис-2-гидрокси-3-нафтоат, эйнбонат), пантотенат, фосфат/дифосфат, пикрат, полигалактуронат, пропионат, *пара*-толуолсульфонат, салицилат, стеарат, субацетат, сукцинат, сульфат, сульфосаликулат, сурамат, таннат, тартрат, теоклат, тозилат, триэтиодид и валерат. Фармацевтически приемлемая соль может иметь в своей структуре более одного заряженного атома. В данном случае фармацевтически приемлемая соль может иметь множество противоионов. Таким образом, фармацевтически приемлемая соль может иметь один или больше чем один заряженный атом и/или один или больше чем один противоион.

[0018] Термины “лечить”, “проведение лечения” и “лечение” относятся к облегчению или устранению заболевания или симптомов, ассоциирующихся с заболеванием. В различных вариантах осуществления изобретения эти термины относятся к минимизации распространения или ухудшения заболевания в результате введения пациенту, страдающему от такого заболевания, одного или более чем одного описанного здесь профилактического или терапевтического соединения.

[0019] Термины “предупредить”, “процесс предупреждения” и “предупреждение” относятся к предупреждению возникновения, рецидива или распространения заболевания у пациента в результате введения описанного здесь соединения.

[0020] Термин “эффективное количество” относится к количеству описанного здесь соединения или другого активного ингредиента, достаточному для обеспечения терапевтического или профилактического эффекта при лечении или предупреждении заболевания или для задержки или минимизации симптомов, ассоциирующихся с заболеванием. Кроме того, терапевтически эффективное количество в отношении описанного здесь соединения означает такое количество терапевтического агента самого по себе или в комбинации с другими видами терапии, которое обеспечивает терапевтический эффект при лечении или предупреждении заболевания. При использовании в связи с описанным здесь соединением данный термин может охватывать количество, которое

улучшает общую терапию, уменьшает или устраняет симптомы или причины заболевания, или усиливает терапевтическую эффективность или является синергетическим с другим терапевтическим агентом.

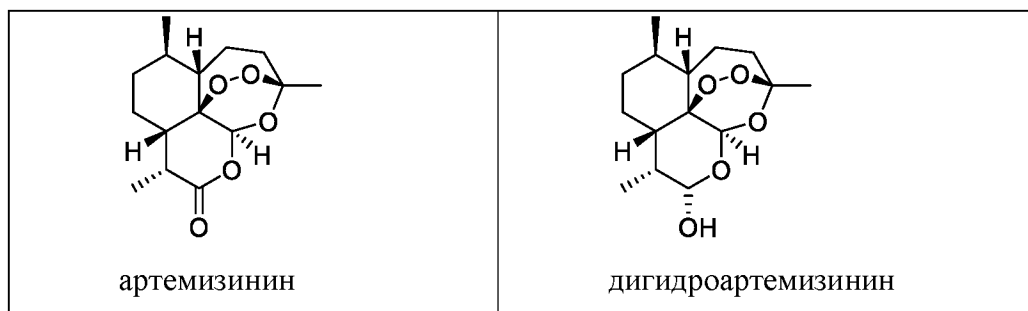
[0021] “Пациент” или “субъект” включает животное, такое как человек, корова, лошадь, овца, ягненок, свинья, курица, индейка, перепел, кошка, собака, мышь, крыса, кролик или морская свинка. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения животное представляет собой млекопитающее, такое как животное, отличающееся от примата, и примат (например, обезьяна и человек). В одном из вариантов осуществления изобретения пациент представляет собой человека, такого как младенец, ребенок, подросток или взрослый человек. В настоящем раскрытии изобретения термины “пациент” и “субъект” используются взаимозаменяемо.

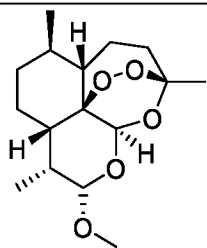
[0022] СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ

[0023] В некоторых вариантах осуществления настоящего раскрытия изобретения предложен способ лечения миелодиспластического синдрома (МДС (MDS)) у субъекта, страдающего от него. Данный способ включает введение данному субъекту терапевтически эффективного количества противомаларийного эндопероксидного соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

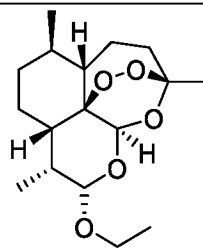
[0024] Как проиллюстрировано в прилагаемых примерах, скрининговые успешные результаты идентифицировали эндопероксидные соединения, для которых хотя до сих пор не известно, что обладают какой-либо терапевтической активностью в контексте МДС (MDS), демонстрируют терапевтические, но патологически не связанные противомаларийные применения. Таким образом, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения эндопероксидное соединение представляет собой природный артемизинин, полученный из растения *Artemisia annua*, или любые известные производные артемизинина, включая полусинтетические производные. Не ограничивающие объем изобретения примеры этих соединений в соответствии с различными вариантами осуществления изобретения представлены в Таблице 1.

[0025] Таблица 1. Артемизинин и некоторые его известные производные.

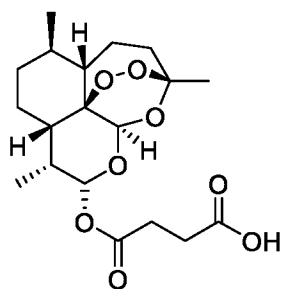




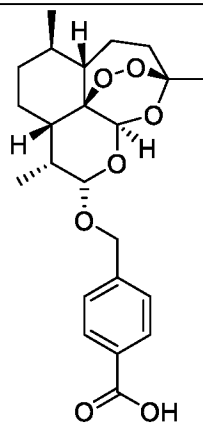
артеметер



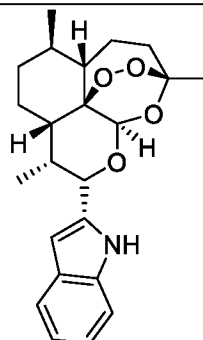
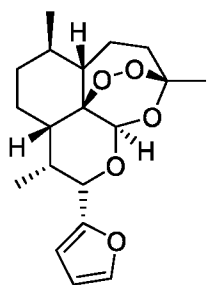
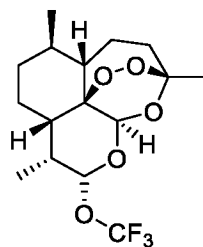
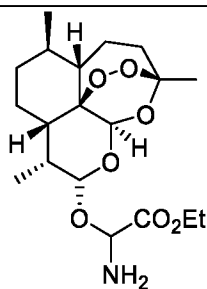
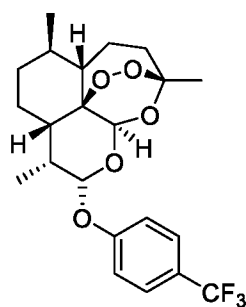
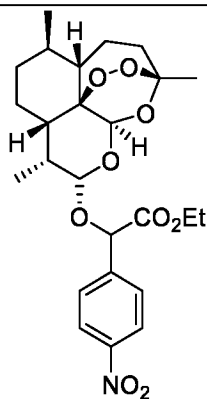
артеэфир

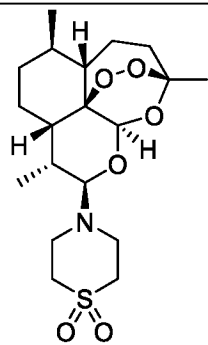


артесунат

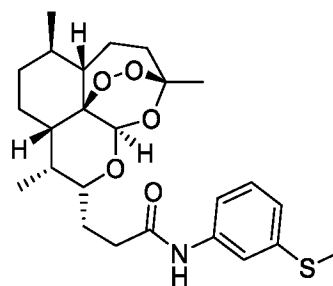


артелинат

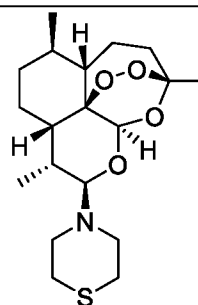
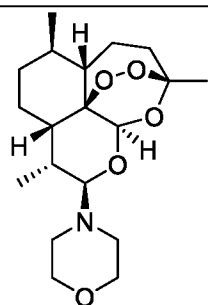
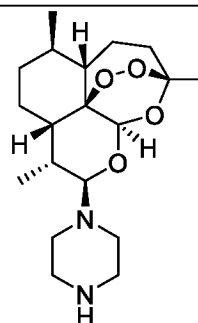
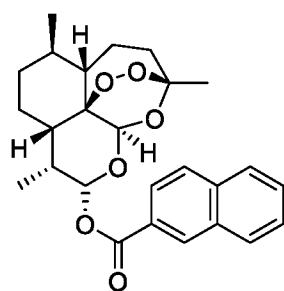
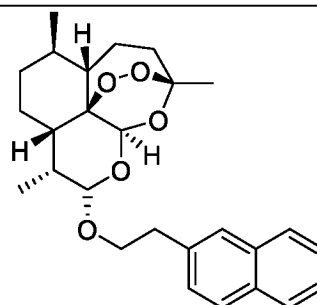
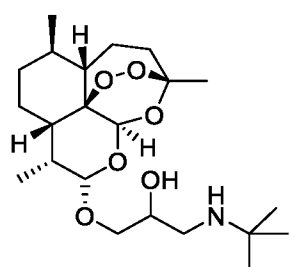
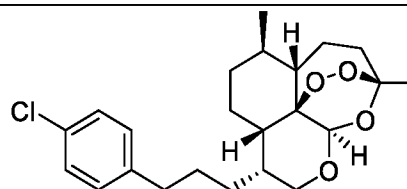
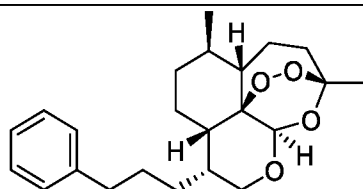
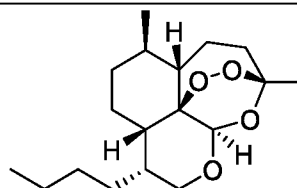
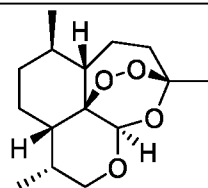


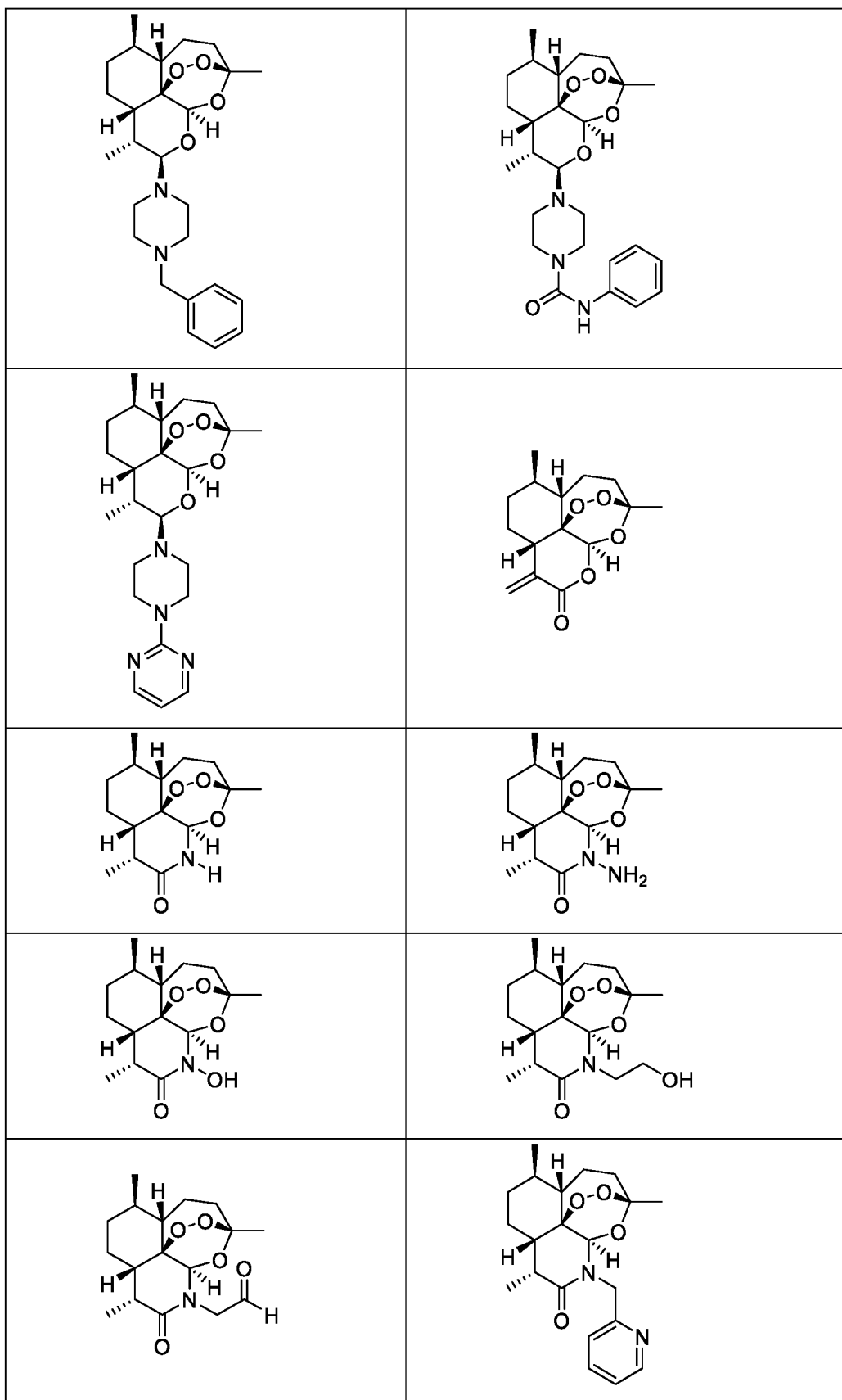


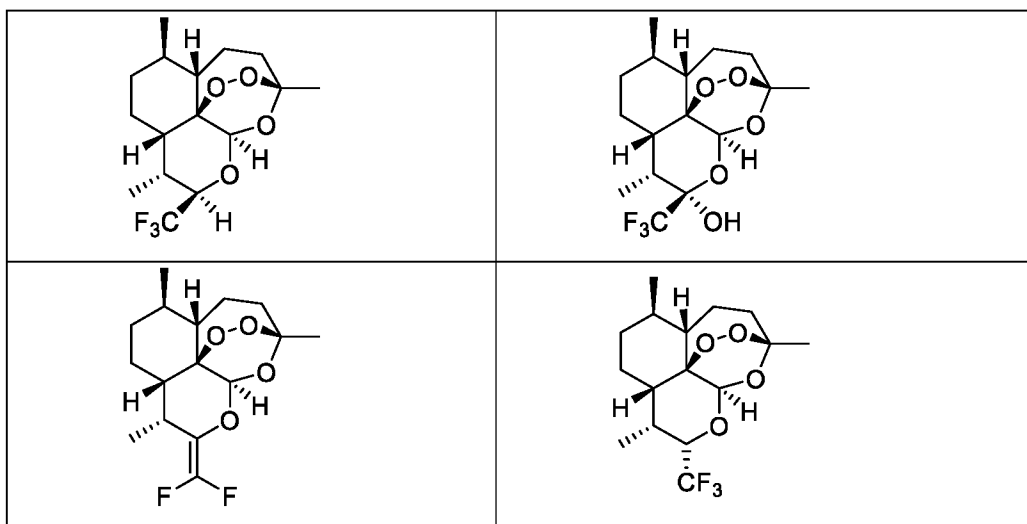
Артемизон



3-артесанилид

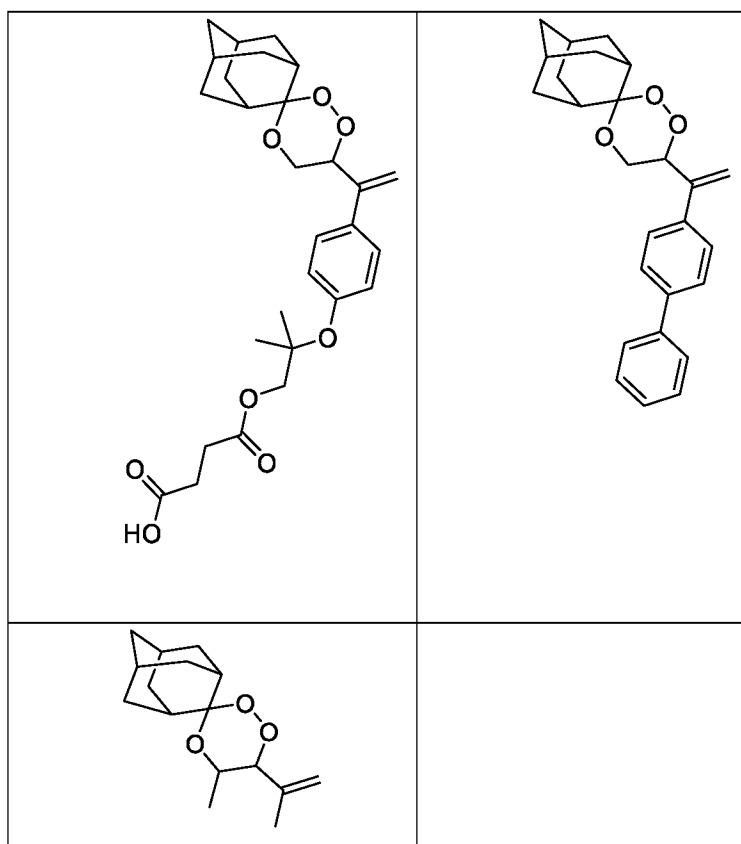






[0026] В других вариантах осуществления изобретения противомаларийное эндопероксидное соединение представляет собой соединение, которое содержит 1,2,4-триоксановое кольцо. Примеры таких соединений, обладающих этим структурным свойством, в соответствии с различными вариантами осуществления изобретения известны в данной области техники и проиллюстрированы в Таблице 2.

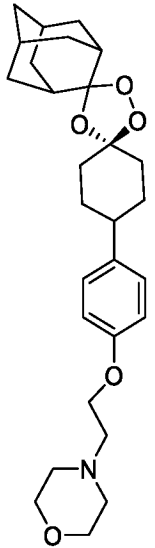
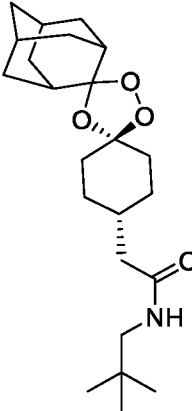
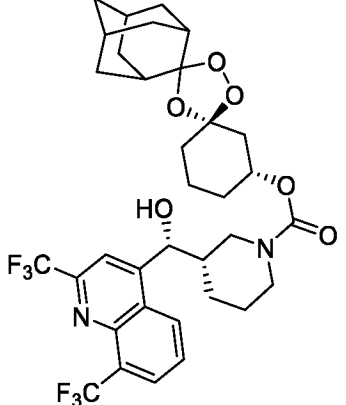
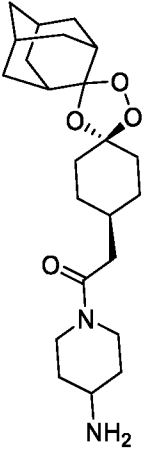
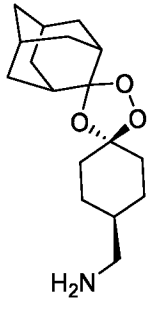
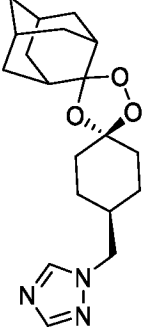
[0027] Таблица 2. Конкретные примеры противомаларийных 1,2,4-триоксановых соединений.

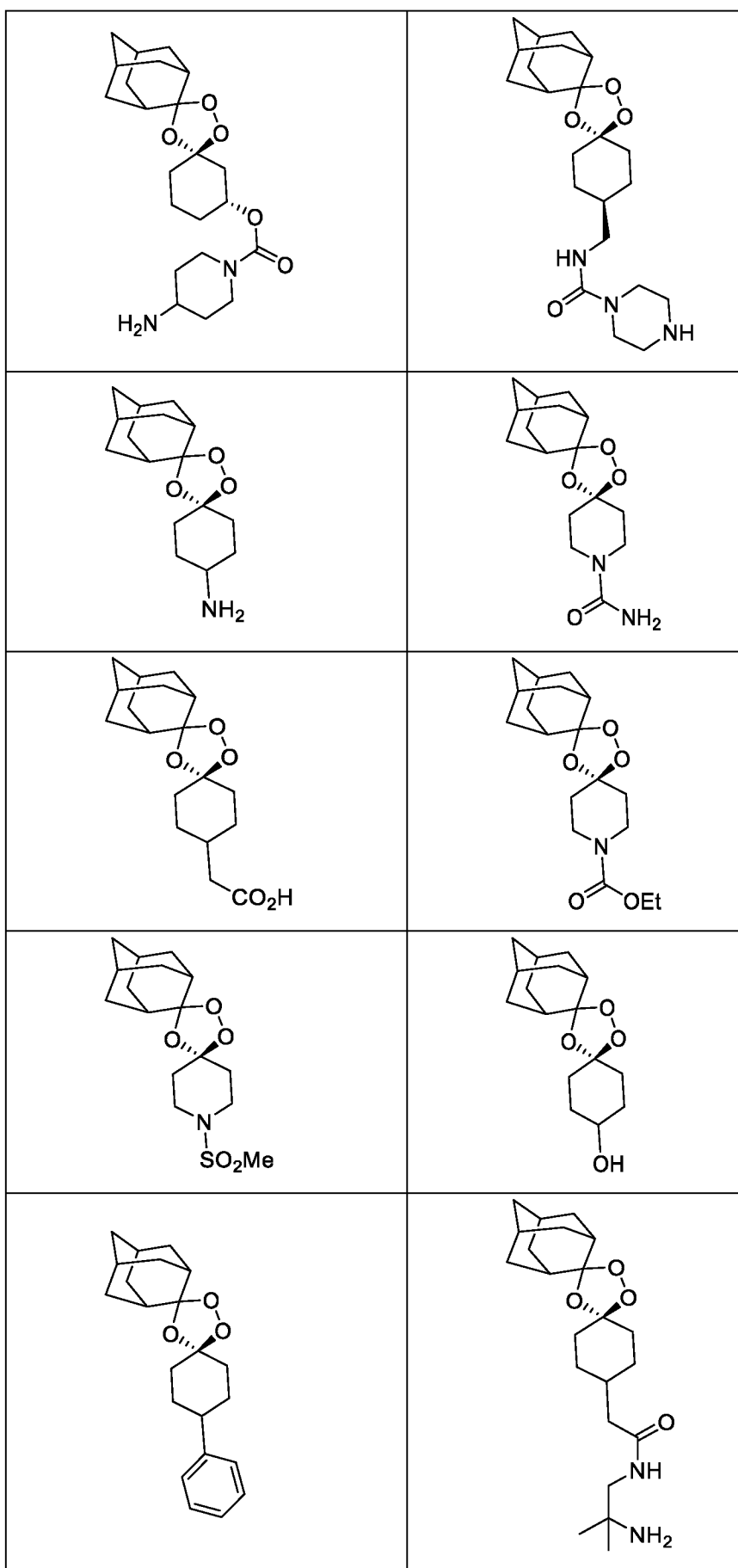


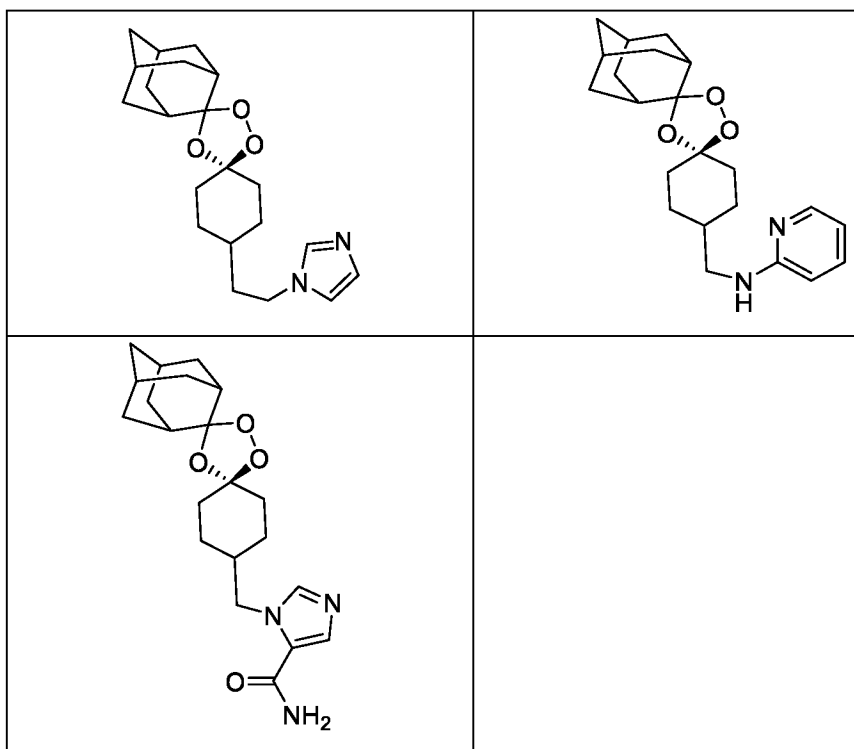
[0028] Другой подкласс противомаларийного эндопероксидного соединения, полезного в раскрытых здесь способах, представляет собой соединение, содержащее 1,2,4-

триоксолановое кольцо. В различных вариантах осуществления изобретения примеры соединений включают соединения, представленные в Таблице 3.

[0029] Таблица 3. Примеры 1,2,4-триоксолановых соединений.

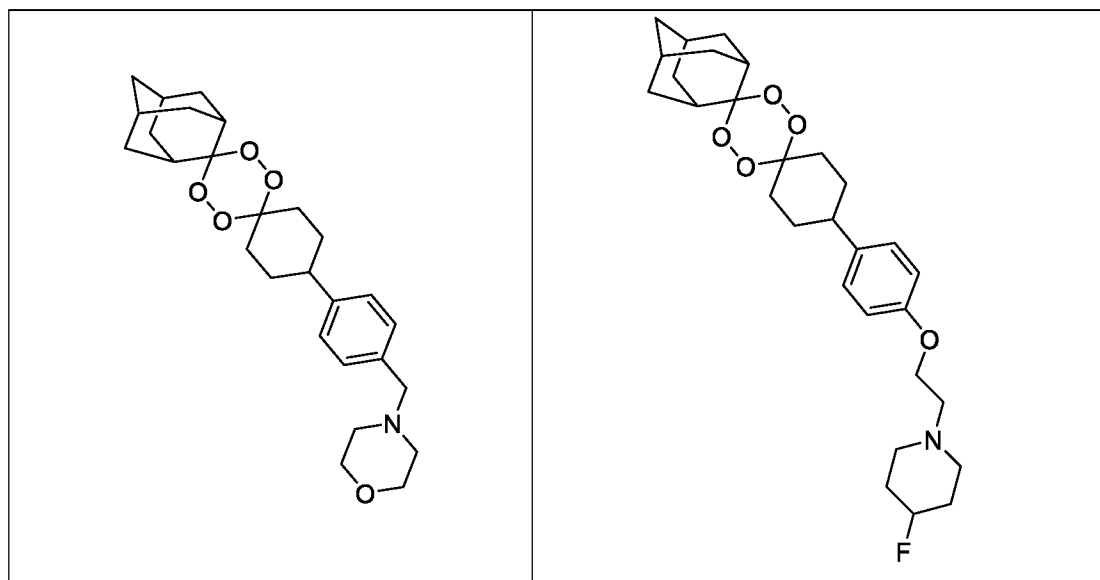
| | |
|---|--|
|  <p>артефеномель</p> |  |
|  |  |
|  |  |

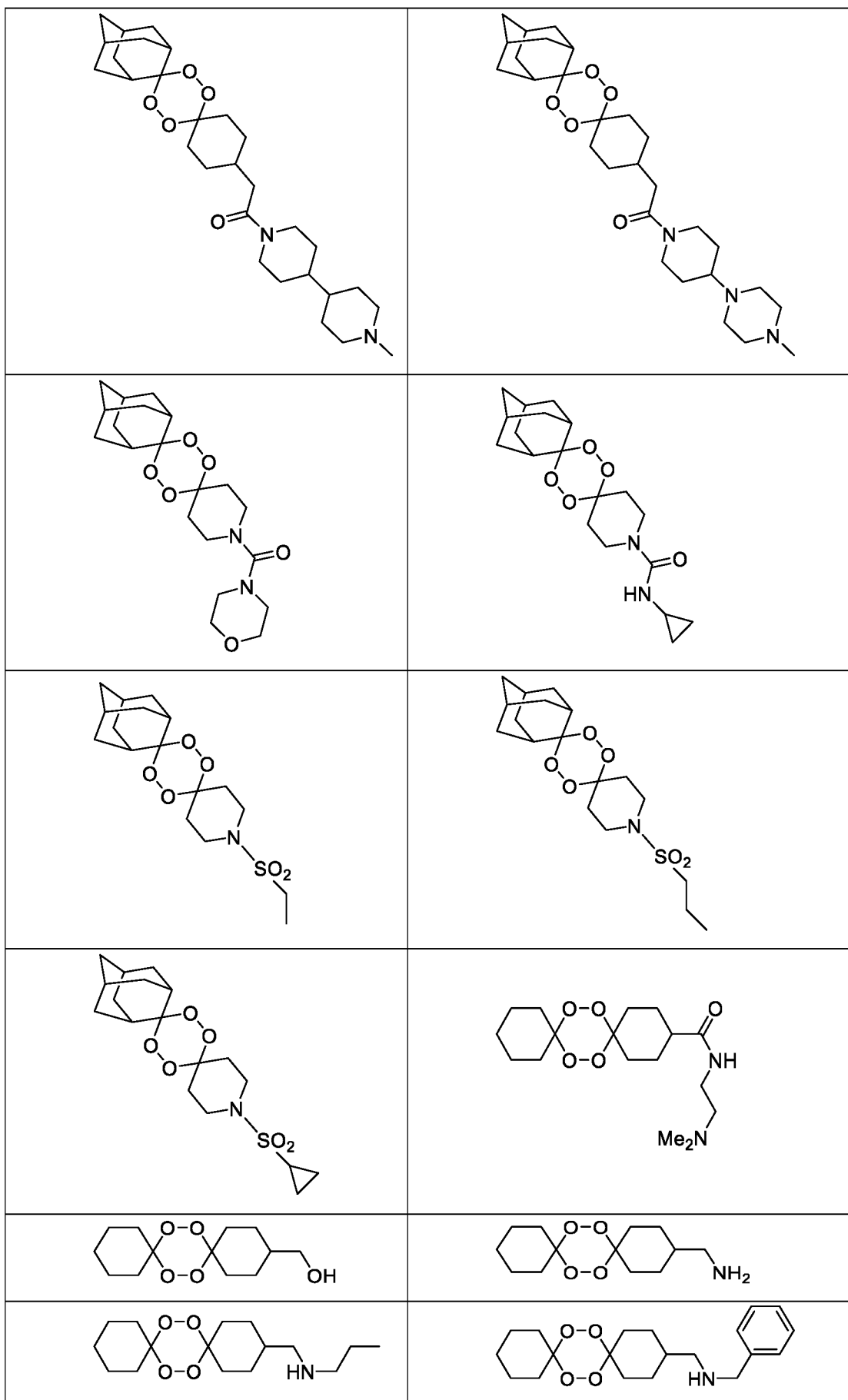


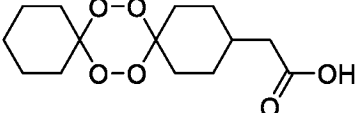
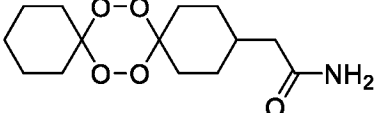
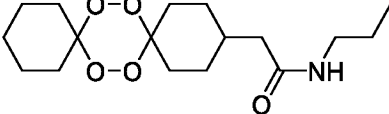
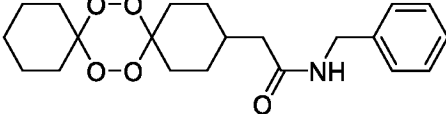
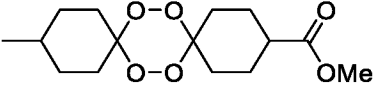
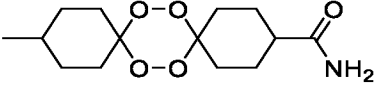
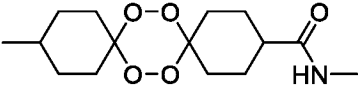
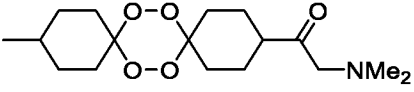
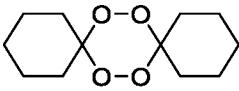
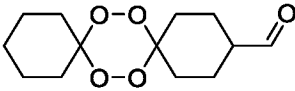


[0030] В дополнительных вариантах осуществления изобретения противомаларийное эндопероксидное соединение представляет собой соединение, которое содержит 1,2,4,5-тетраоксановое кольцо. Не ограничивающие объем изобретения примеры такого соединения в соответствии с различными вариантами осуществления изобретения представлены в Таблице 4.

[0031] Таблица 4. Примеры 1,2,4,5-тетраоксановых соединений.





| | |
|---|--|
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |

[0032] Вводимое соединение, его доза, лекарственная форма и общая схема лечения выбираются лечащим врачом на основании, частично, диагноза МДС (MDS) у пациента. В этой связи МДС (MDS) может быть описан со ссылкой на его классификацию и подтип. Таким образом, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения одна из классификаций МДС (MDS) представляет собой первичный МДС (MDS), который характеризуется отсутствием у пациента каких-либо явных факторов риска. Примеры факторов риска включают пожилой возраст пациента (МДС (MDS) редко встречается у пациентов моложе 50 лет, и большинство случаев МДС (MDS) приходится на пациентов в возрасте по меньшей мере 70 или 80 лет); пол пациента (МДС (MDS) чаще встречается у мужчин); предшествующее лечение рака, такое как химиотерапия, лучевая терапия или обе; наличие генетических синдромов, таких как анемия Фанкони, синдром Швахмана-Даймонда, анемия Даймонда-Блэкфана, семейное тромбоцитарное расстройство с предрасположенностью к миелоидному злокачественному новообразованию, тяжелая врожденная нейтропения и врожденный дискератоз; семейный МДС (MDS); курение; и воздействие окружающей среды, такое как излучение вследствие аварии на ядерном реакторе или взрыва атомной бомбы; и длительное воздействие на рабочем месте бензола или других известных канцерогенов в химической или нефтяной промышленности.

[0033] Другая классификация МДС (MDS) представляет собой вторичный МДС (MDS), который часто вызван повреждением ДНК пациента в результате химиотерапии и/или лучевой терапии, ранее назначенной пациенту для лечения другого медицинского состояния. Вторичный МДС (MDS) может развиваться через 2-10 лет после такого лечения и часто ассоциируется с более сложными хромосомными аномалиями.

[0034] МДС (MDS) также может быть охарактеризован в некоторых вариантах осуществления изобретения со ссылкой на его подтип. Подтипы МДС (MDS) включают рефрактерную анемию (РА (RA)), рефрактерную анемию с кольцевыми сидеробластами (РАКС (RARS)), рефрактерную цитопению с мультилинейной дисплазией (РЦМД (RCMD)), рефрактерную цитопению с мультилинейной дисплазией и кольцевыми сидеробластами (РЦМД-КС (RCMD-RS)), рефрактерную анемию с избыточными бластами (РАИБ (RAEB)), неклассифицированный миелодиспластический синдром (НМДС (MDS-U)) и МДС (MDS), ассоциирующийся с изолированной del(5q).

[0035] Субъект, страдающий от МДС (MDS), также подвержен риску прогрессирования заболевания до острого миелолейкоза (ОМЛ (AML)). Например, риск особенно высок у субъектов, у которых был диагностирован РАИБ (RAEB). Таким образом, в варианте осуществления настоящего раскрытия изобретения также предложен способ замедления или предупреждения развития лейкоза, такого как ОМЛ (AML), у субъекта, страдающего от МДС (MDS), включающий введение данному субъекту описанного здесь противомаларийного эндопероксидного соединения или его фармацевтически приемлемой соли. Лечащий врач диагностирует МДС (MDS) у субъекта и в соответствии с принятыми критериями прогнозирует риск развития ОМЛ (AML) у субъекта. Например, лечащий врач может использовать Международную прогностическую систему оценки (МПСО (IPSS-R)) для оценки факторов риска: они включают процентную долю бластов, обнаруженных в костном мозге субъекта, тип и степень хромосомных изменений, и уровни гемоглобина, обнаруженные в эритроцитах, тромбоцитах и нейтрофилах. Более низкая оценка МПСО (IPSS-R) коррелирует у субъекта с МДС (MDS), имеющим более низкий риск развития ОМЛ (AML) и более высокий общий прогноз выживания, при котором требуется менее агрессивное лечение. Напротив, более высокая оценка МПСО (IPSS-R), такая как у субъектов, страдающих от МДС (MDS) высокого риска, может указывать на необходимость более агрессивного лечения.

[0036] ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ

[0037] В настоящем раскрытии изобретения также предложена фармацевтическая композиция возможно для применения в комбинации с описанными здесь способами, содержащая терапевтически эффективное количество одного или более чем одного описанного здесь соединения или фармацевтически приемлемой соли в смеси с фармацевтически приемлемым носителем. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция дополнительно содержит в соответствии с принятой практикой составления фармацевтических композиций один или более чем один дополнительный

терапевтический агент, фармацевтически приемлемый, разбавитель, адъювант, стабилизатор, эмульгатор, консервант, краситель, буфер, корригент.

[0038] В одном из вариантов осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит соединение, выбранное из соединений, проиллюстрированных в Таблицах 1-4, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

[0039] Фармацевтическую композицию в соответствии с настоящим раскрытием изобретения готовят, дозируют и вводят в соответствии с надлежащей медицинской практикой. Факторы, которые следует учитывать в этом контексте, включают конкретное расстройство, которое лечат, конкретного субъекта, которого лечат, клиническое состояние субъекта, причину расстройства, место доставки агента, способ введения, схему введения и другие факторы, известные практикующим врачам.

[0040] Вводимое “терапевтически эффективное количество” соединения или его фармацевтически приемлемой соли определяется такими аспектами и представляет собой минимальное количество, необходимое для восстановления нормального эритропоэза у пациентов, страдающих от МДС (MDS), для индукции дифференцирования клеток MDS-L, для ингибирования биосинтеза гема или любой их комбинации. Такое количество может быть меньше количества, которое является токсичным для нормальных клеток или субъекта в целом. Как правило, исходное вводимое терапевтически эффективное количество соединения в соответствии с настоящим раскрытием изобретения находится в диапазоне от приблизительно 0,01 до приблизительно 200 мг/кг или от приблизительно 0,1 до приблизительно 20 мг/кг массы тела пациента в сутки, при этом типичный исходный диапазон составляет от приблизительно 0,3 до приблизительно 15 мг/кг/сутки. Стандартные лекарственные формы для перорального введения, такие как таблетки и капсулы, могут содержать от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 1000 мг соединения в соответствии с настоящим раскрытием изобретения. В другом варианте осуществления изобретения такие лекарственные формы содержат от приблизительно 50 мг до приблизительно 500 мг соединения в соответствии с настоящим раскрытием изобретения. В еще одном варианте осуществления изобретения такие лекарственные формы содержат от приблизительно 25 мг до приблизительно 200 мг соединения в соответствии с настоящим раскрытием изобретения. В еще одном варианте осуществления изобретения такие лекарственные формы содержат от приблизительно 10 мг до приблизительно 100 мг соединения в соответствии с настоящим раскрытием изобретения. В дополнительном варианте осуществления изобретения такие лекарственные формы содержат от приблизительно 5 мг до приблизительно 50 мг соединения в соответствии с настоящим раскрытием изобретения.

В любом из вышеуказанных вариантов осуществления изобретения лекарственную форму можно вводить один раз или два раза в сутки.

[0041] Композиции в соответствии с настоящим раскрытием изобретения можно вводить перорально, местно, парентерально, путем ингаляции или распыления, или ректально в стандартных лекарственных композициях. Используемый здесь термин парентеральный включает подкожные инъекции, внутривенную, внутримышечную, внутригрудинную инъекцию или способы инфузии.

[0042] Подходящие описанные здесь композиции для перорального введения, включают без ограничения таблетки, троше, пастилки, водные или масляные суспензии, диспергируемые порошки или гранулы, эмульсию, твердые или мягкие капсулы, сиропы или эликсиры.

[0043] В одном из вариантов осуществления изобретения также охвачены фармацевтические композиции, подходящие для единичных стандартных доз, которые содержат соединение в соответствии с настоящим раскрытием изобретения или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

[0044] Композиции в соответствии с настоящим раскрытием изобретения, подходящие для перорального применения, могут быть приготовлены при помощи любого из способов, известных в данной области техники для приготовления фармацевтических композиций. Например, жидкие композиции соединений в соответствии с настоящим раскрытием изобретения содержат один или более чем один агент, выбранный из группы, состоящей из подсластителей, корригентов, красителей и консервантов, для обеспечения фармацевтически приемлемых препаратов соединения в соответствии с настоящим раскрытием изобретения.

[0045] Для композиций таблеток соединение в соответствии с настоящим раскрытием изобретения в смеси с нетоксичными фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами используют для приготовления таблеток. Примеры таких вспомогательных веществ включают без ограничения инертные разбавители, такие как карбонат кальция, карбонат натрия, лактоза, фосфат кальция или фосфат натрия; гранулирующие агенты и агенты для улучшения распадаемости, например, кукурузный крахмал или альгиновая кислота; связывающие агенты, например, крахмал, желатин или аравийскую камедь, и смазывающие агенты, например, стеарат магния, стеариновая кислота или тальк. Таблетки могут быть без покрытия или они могут быть покрыты оболочкой при помощи известных способов покрытия для замедления разрыхления и абсорбции в желудочно-кишечном тракте и, таким образом, обеспечения длительного терапевтического действия в течение желаемого периода времени. Например, может быть

использован материал, обеспечивающий задержку по времени, такой как глицерилмоностерат или глицерилдистеарат.

[0046] Композиции для перорального применения также могут быть представлены в виде твердых желатиновых капсул, в которых активный ингредиент смешан с инертным твердым разбавителем, например, карбонатом кальция, фосфатом кальция или каолином, или в виде мягких желатиновых капсул, в которых активный ингредиент смешан с водной или масляной средой, например, арахисовым маслом, жидким парафином или оливковым маслом.

[0047] Для водных суспензий соединение в соответствии с настоящим раскрытием изобретения смешивают с вспомогательными веществами, подходящими для поддержания стабильной суспензии. Примеры таких вспомогательных веществ включают без ограничения натриевую карбоксиметилцеллюлозу, метилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, альгинат натрия, поливинилпирролидон, трагакантовую камедь и аравийскую камедь.

[0048] Суспензии для перорального введения также могут содержать диспергирующие агенты или увлажнители, такие как природный фосфатид, например, лецитин, или продукты конденсации алкиленоксида с жирными кислотами, например, полиоксиэтиленстеаратом, или продукты конденсации этиленоксида с длинноцепочечными алифатическими спиртами, например, гептадекаэтиленоксицетанолом, или продукты конденсации этиленоксида с неполными сложными эфирами, полученными из жирных кислот и гексита, такими как моноолеат полиоксиэтиленсорбита, или продукты конденсации этиленоксида с неполными сложными эфирами, полученными из жирных кислот и ангидридов гексита, например, моноолеатом полиэтиленсорбитана. Водные суспензии также могут содержать один или более чем один консервант, например, этил- или *n*-пропил *para*-гидроксибензоат, один или более чем один краситель, один или более чем один корригент и один или более чем один подсластитель, такой как сахароза или сахарин.

[0049] Масляные суспензии могут быть приготовлены путем суспендирования соединения в соответствии с настоящим раскрытием изобретения в растительном масле, например, арахисовом масле, оливковом масле, кунжутном масле или кокосовом масле, или в минеральном масле, таком как жидкий парафин. Масляные суспензии могут содержать загуститель, например, пчелиный воск, твердый парафин или цетиловый спирт.

[0050] Для приготовления препаратов для перорального введения с приятным вкусом могут быть добавлены подсластители, такие как изложенные выше, и корригенты.

Эти композиции могут быть консервированы путем добавления антиоксиданта, такого как аскорбиновая кислота.

[0051] Диспергируемые порошки и гранулы, подходящие для приготовления водной суспензии путем добавления воды, обеспечивают соединение в соответствии с настоящим раскрытием изобретения в смеси с диспергирующим агентом или увлажнителем, суспендирующим агентом и одним или более чем одним консервантом. Примерами подходящих диспергирующих агентов или увлажнителей и суспендирующих агентов являются вещества, упомянутые выше. Также могут быть представлены дополнительные вспомогательные вещества, например, подсластители, корригенты и красители.

[0052] Фармацевтические композиции в соответствии с настоящим раскрытием изобретения также могут быть представлены в форме эмульсий масло в воде. Масляная фаза может представлять собой растительное масло, например, оливковое масло или арахисовое масло, или минеральное масло, например, жидкий парафин, или их смеси. Подходящие эмульгаторы могут представлять собой природные камеди, например, аравийскую камедь или трагакантовую камедь, природные фосфатиды, например, из соевых бобов, лецитин и сложные эфиры или частичные сложные эфиры, полученные из жирных кислот и гексита, ангидриды, например, сорбитанмонолеат, и продукты реакции конденсации указанных неполных сложных эфиров с этиленоксидом, например, монолеат полиоксиэтиленсорбитана. Эмульсии также могут содержать подсластители и корригенты.

[0053] Сиропы и эликсиры могут быть приготовлены с подсластителями, например, глицерином, пропиленгликолем, сорбитом или сахарозой. Такие композиции также могут содержать агенты, уменьшающие раздражение, консерванты, корригенты и красители.

[0054] Фармацевтическая композиция может быть представлена в форме стерильной инъекционной водной или масляной суспензии. Такая суспензия может быть приготовлена в соответствии с известным уровнем техники с использованием подходящих диспергирующих агентов или увлажнителей и суспендирующих агентов, упомянутых выше. Стерильный инъекционный препарат также может представлять собой стерильный инъекционный раствор или суспензию в нетоксичном, приемлемом для парентерального введения разбавителе или растворителе, например, в виде раствора в 1,3-бутандиоле. Приемлемые разбавители и растворители, которые можно использовать, включают воду, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, в качестве растворителя или суспендирующей среды обычно используют стерильные нелетучие масла. Для этой цели можно использовать любое безвкусное нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, при приготовлении препаратов для инъекций используют жирные кислоты, такие как олеиновая кислота.

[0055] Описанные здесь соединения также могут быть введены в форме суппозиторий для ректального введения лекарственного средства. Эти композиции могут быть приготовлены путем смешивания лекарственного средства с подходящим нераздражающим вспомогательным веществом, которое является твердым при обычных температурах, но жидким при температуре в прямой кишке и, следовательно, будет плавиться в прямой кишке с высвобождением лекарственного средства. Такие вещества представляют собой масло какао и полиэтиленгликоли.

[0056] Композиции для парентерального введения вводят в стерильной среде. В зависимости от используемого в композиции разбавителя и концентрации лекарственного средства композиция для парентерального введения может представлять собой суспензию или раствор, содержащий растворенное лекарственное средство. В композиции для парентерального введения также могут быть добавлены адьюванты, такие как местные анестетики, консерванты и буферные агенты.

ПРИМЕРЫ

[0057] Следующие не ограничивающие объем изобретения примеры представляют собой дополнительные варианты осуществления изобретения, которые дополнительно иллюстрируют настоящее раскрытие изобретения.

[0058] Все эндопероксидные соединения, описанные в настоящем раскрытии изобретения, получены из коммерческих источников или синтезированы в соответствии с опубликованными способами. Смотри, например, M. Rudrapal *et al. Drug Design, Development and Therapy* 10 (2016) 3575-3590, D. M. Opsenica *et al. J. Serb. Chem. Soc.* 74(11) (2009) 1155-1193 и цитируемые в нем источники.

[0059] **Анализ дифференцирования MDS-L.** Учитывая ограниченное количество образцов пациентов и низкий выход в результате каждой биопсии невозможно проводить высокопроизводительные скрининги с первичными клетками. Таким образом, авторы изобретения получили клеточную линию, выделенную из CD34+ MDS HPC, названную MDS-L, которая, как ранее было продемонстрировано, является компетентной в отношении дифференцирования при дополнении соответствующими цитокинами (J. Fang *et al., Nat. Med.* 22(7) (2016) 727-734; K. Tohyama *et al., Br. J. Haematol.* 91(4) (1995) 795-799).

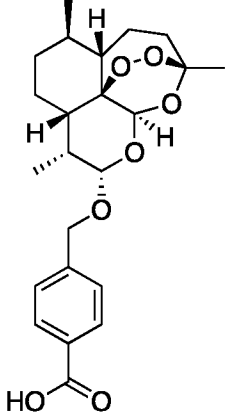
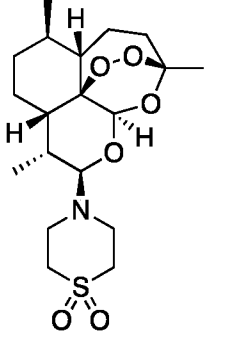
[0060] Для проведения скринингового анализа авторы изобретения выбрали известные индукторы дифференцирования клеток острого миелолейкоза, включая полностью *транс* ретиноевую кислоту (ИТПК (АТРА)), Бреквинар и форбол-12-миристат-13-ацетат (ФМА (РМА)). Авторы настоящего изобретения обнаружили то, что все агенты были эффективны при индукции дифференцирования в более терминальные линии крови, причем измерение оценивали по клеточной иммунопозитивности к антителам,

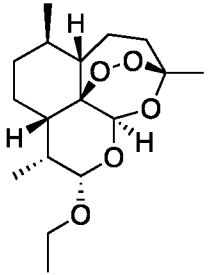
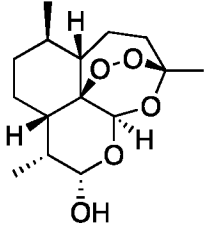
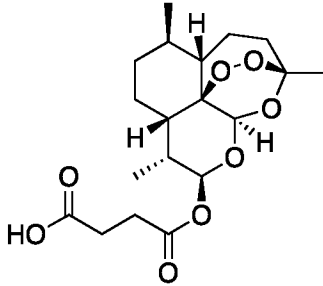
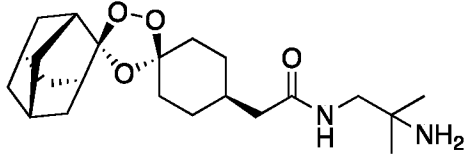
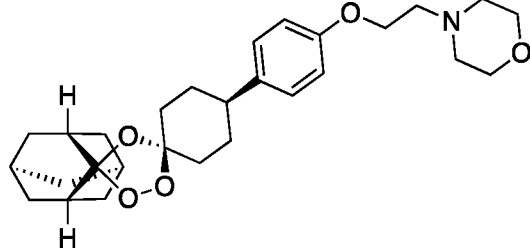
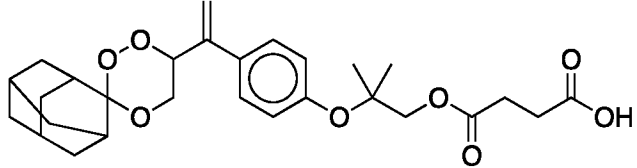
направленным против GlyA, в 384-луночном анализе на основе клеточной сортировки с активацией флуоресценции (КСАФ (FACS)). Среди них авторы изобретения обнаружили то, что ПТРК (АТРА) высокоэффективно индуцирует дифференцирование, демонстрируя при этом минимальную цитотоксичность при считывании путем гейтирования живых и мертвых клеток (Фиг. 2). По этим причинам ПТРК (АТРА) служила подходящим положительным контролем при попытках скрининга. С помощью этого установленного миниатюрного анализа затем проводили скрининг полной библиотеки перепрофилирования лекарственного средства ReFRAME для ранее неаннотированных агентов, которые вызывают дифференцирование клеток MDS-L с минимальной цитотоксичностью. Среди наиболее подтвержденных успешных результатов этого скрининга были молекулы, представляющие известные механизмы индукции остановки клеточного цикла в клетках МДС (MDS), включая, среди прочего, ингибиторы топоизомеразы, агенты, нацеленные на тубулин, химиотерапевтические средства, повреждающие ДНК, и множество ингибиторов рецепторной тирозинкиназы.

[0061] Неожиданно то, что скрининговые успешные результаты без ранее зарегистрированной активности в биологии МДС (MDS) представляли собой два полусинтетических производных артемизинина, представляющего собой природный эндопероксид, который представляет собой установленное противомаларийное лекарственное средство. Поэтому авторы изобретения оценивали типичные эндопероксиды, включая дигидроартемизинин, артеэфир, артемизон, артесунат и синтетический триоксолан-артефеномель. MDS-L культивировали в RPMI (17-105-CV, Corning) без фенолового красного и добавляли 2 мМ глутамин и 10% фетальную бычью сыворотку (ФБС (FBS)). Клетки сначала росли в IL-3 до 70% конfluence, а затем предварительно кондиционировали в течение 14 суток с IL-3 (200-03, PeproTech), гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (ГКСФ (GCSF) (300-23, PeproTech) и эритропоэтином (ЭПЭ (EPO)) (287-TC, R&D Systems) для стимулирования эритроидного и миелоидного дифференцирования. Плотность 10000 клеток на лунку использовали в фенотипических анализах. Клетки MDSL центрифугировали и среды для обработки заменяли на среды, содержащие APC Anti-CD235a (GlyA) (551336, BD Biosciences) (1,25 мкл на 50 мкл теста), и инкубировали в течение 1 часа при 4°C. Клетки промывали, затем контрастировали с использованием 1 мкМ SYTOX-Green на 100 мкл перед анализом при помощи способа проточной цитометрии. Анализы зависимости ответа от дозы и фармакологические анализы осуществляли с использованием анализатора клеток ZE5 (BioRad), оснащенного программным обеспечением Everest. Единичные живые клетки анализировали в отношении экспрессии GlyA с использованием программного обеспечения

FlowJo v10.7.2. Результаты представлены в Таблице 5. Все тестируемые соединения были эффективны при индукции позитивности в отношении GlyA в клетках MDS-L; половина максимальной активности этих агентов варьировала на протяжении двух порядков (Фиг. 3).

[0062] Таблица 5: Анализ дифференцирования MDS-L для противомаларийных эндопероксидных соединений.

| Название соединения | Структура | Средняя эффективная концентрация (EC ₅₀) для индукции MDS-L GlyA (мкМ) | Максимальная кратная индукция MDS-L GlyA |
|---------------------------------|---|--|--|
| Артелиновая кислота (артелинат) |  | 0,03 | 7,26 |
| Артемизон |  | 0,15 | 6,84 |

| | | | |
|-----------------------|--|---------|------|
| Артеэфир |  | 0,58 | 3,82 |
| Дигидроартемизин |  | 0,61 | 7,09 |
| Артесунат |  | 0,85 | 7,51 |
| Артеролан (OZ-277) |  | 1,74 | 7,02 |
| Артефеномель (O3-439) |  | 5,65 | 3,71 |
| CDRI-97/78 |  | 0,01253 | 3,09 |

[0063] Аналогичным образом, авторы изобретения продемонстрировали то, что примеры артемизининовых соединений артемизон и артеэфир эффективно индуцировали терминальное дифференцирование клеток MDS-L в CFU-E, одновременно уменьшая количество колоний типа BFU-E, CFU-GM и CFU-GEMM в анализах колониеобразующих единиц (КОЕ (CFU)). Кроме того, артемизон и артеэфир эффективно способствовали утрате CD71 и не демонстрировали значительной индукции при апоптозе ниже 20 мкМ. Вместе эти результаты указывают на функциональное и нетоксичное влияние на мультилинейное

дифференцирование в бластных клетках МДС (MDS). Напротив, не содержащая пероксид молекула 2-дезоксидартемизинина была неактивной в анализах дифференцирования.

[0064] Деpletion гема вызывает терминальное дифференцирование клеток MDS-L. Задача данного примера заключается в достижении фармакологического понимания того, каким образом эндопероксида, которые не обладают известной терапевтической активностью при МДС (MDS), неожиданно эффективны для индуцирования дифференцирования бластов МДС (MDS). Поскольку 2-дезоксидартемизинин не активен для этой задачи, авторы изобретения пришли к выводу о том, что эндопероксидное ядро активных молекул, идентифицированных при скрининге, соответствует их активности, что указывает на механизм, похожий на тот, каким образом артемизинины вызывают ослабление малярийного паразита. В этом терапевтически отличном контексте известно то, что артемизинины активируются гемом-железом, представляющим собой каталитическое событие, которое катализирует расщепление эндопероксида, генерируя свободные радикалы и образуя реакционноспособные частицы, которые могут инактивировать важные белки, необходимые для выживания паразита.

[0065] Дополнительным следствием этого механизма является алкилирование артемизинина до гема, что приводит к его функциональной инактивации. Поскольку авторы изобретения не обнаружили других активных форм кислорода (АФК (ROS)), представляющих собой индукторы или алкиляторы в качестве активных положительных результатов скрининга, авторы изобретения пришли к выводу о том, что истощение гема представляет собой путь, при котором артемизинины способствуют дифференцированию этой популяции клеток. Для того, чтобы проиллюстрировать дополнительно, авторы изобретения обнаружили то, что ингибирование биосинтеза гема эффективно индуцировало дифференцирование МДС (MDS), поскольку было обнаружено то, что обработка ингибитором феррохелатазы NMPP (N-метилпротопорфирин) увеличивает позитивность в отношении GlyA в клетках MDS-L (Фиг. 4А). Аналогичным образом, авторы изобретения обнаружили то, что обработка NMPP и типичным производным артемизинина артемизоном эффективно уменьшало уровни лабильного гема в клетках MDS-L в течение соответствующих периодов времени (Фиг. 4В). Кроме того, авторы изобретения обнаружили то, что добавление экзогенного гема в форме гемина подавляло потенциал артемизона вызывать дифференцирование клеток MDS-L (Фиг. 4С). Эти результаты позиционируют фармакологическое истощение гема, такое как, путем прямой конъюгации или ингибирования его биосинтеза, как средство для индукции дифференцирования соответствующего типа клеток МДС (MDS) и средства для индуцирующей дифференцирование терапии МДС (MDS).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения миелодиспластического синдрома (MDS) у субъекта, страдающего от него, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества противомаларийного эндопероксидного соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

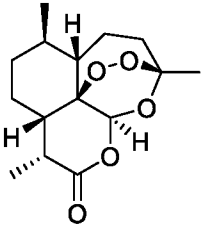
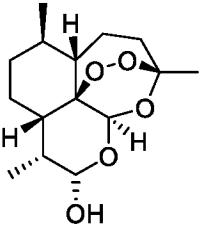
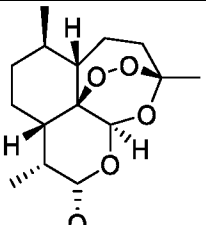
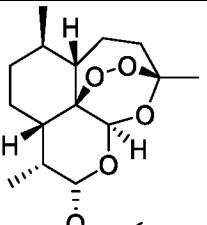
2. Способ замедления или предупреждения развития лейкоза у субъекта, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества противомаларийного эндопероксидного соединения или его фармацевтически приемлемой соли, причем указанный субъект представляет собой субъекта, страдающего от миелодиспластического синдрома (MDS).

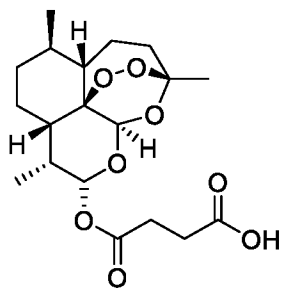
3. Способ по п. 2, отличающийся тем, что указанный лейкоз представляет собой острый миелоидный лейкоз (AML).

4. Способ по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что эндопероксидное соединение выбрано из артемизинина и его производных, соединения, содержащего 1,2,4-триоксановое кольцо, соединения, содержащего 1,2,4-триоксолановое кольцо, соединения, содержащего 1,2,4,5-тетраоксановое кольцо, и его фармацевтически приемлемых солей.

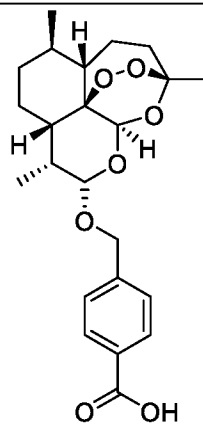
5. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что эндопероксид выбран из артемизинина и его производных или его фармацевтически приемлемой соли.

6. Способ по п. 5, отличающийся тем, что артемизинин и его производные или его фармацевтически приемлемая соль выбраны из следующей таблицы:

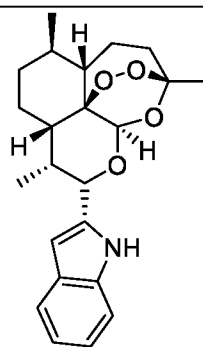
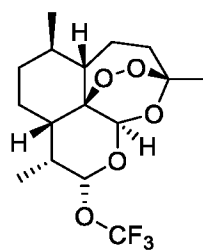
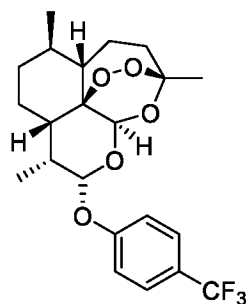
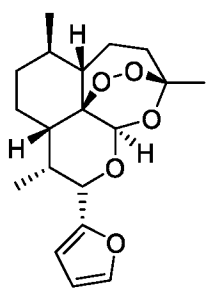
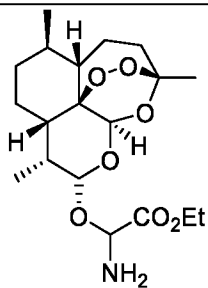
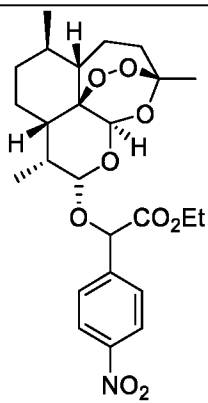
| | |
|--|--|
|  <p>артемизинин</p> |  <p>дигидроартемизинин</p> |
|  <p>артеметер</p> |  <p>артеэфир</p> |

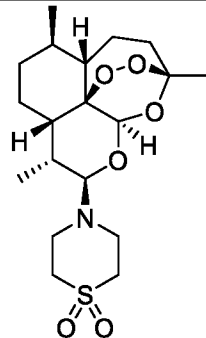
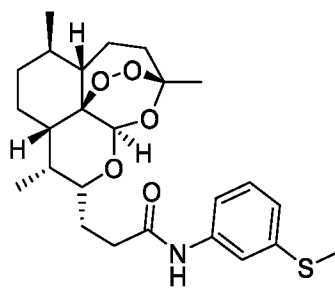
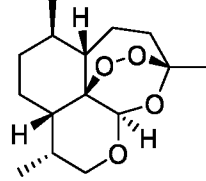
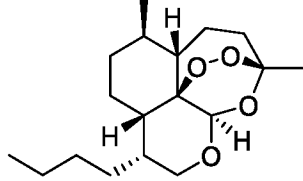
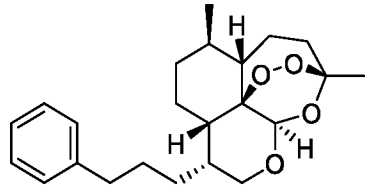
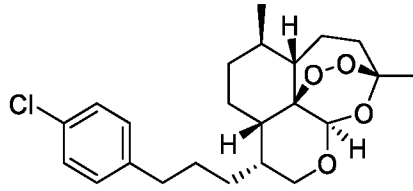
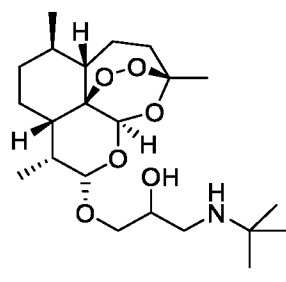
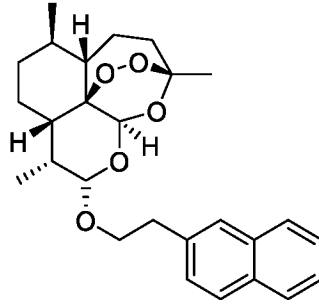
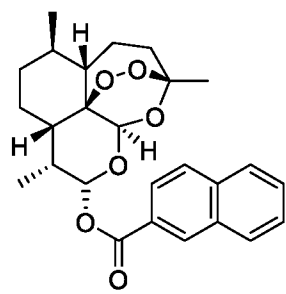
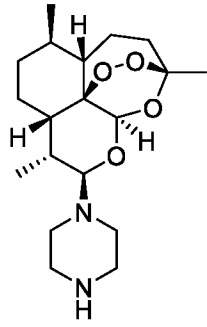
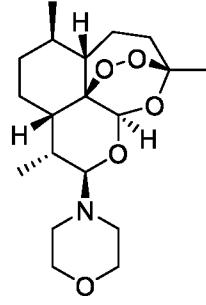
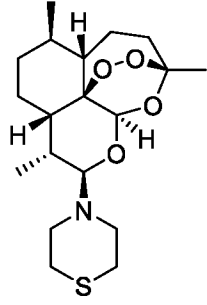


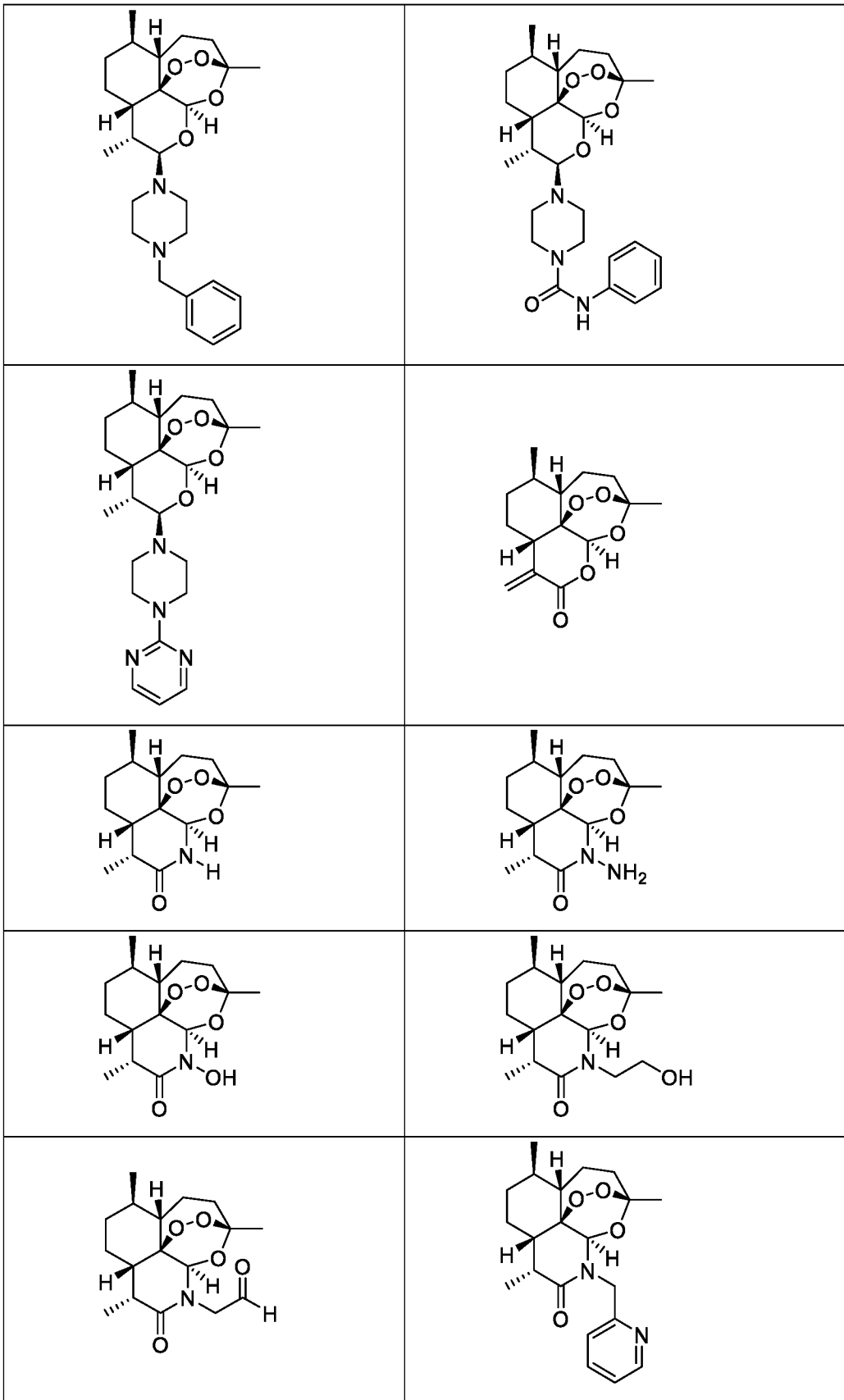
артесунат

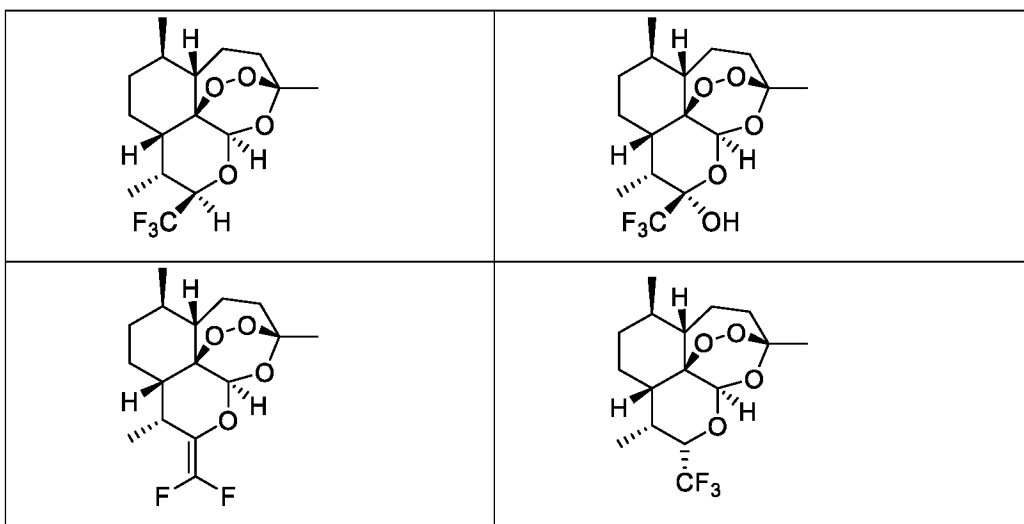


артелинат



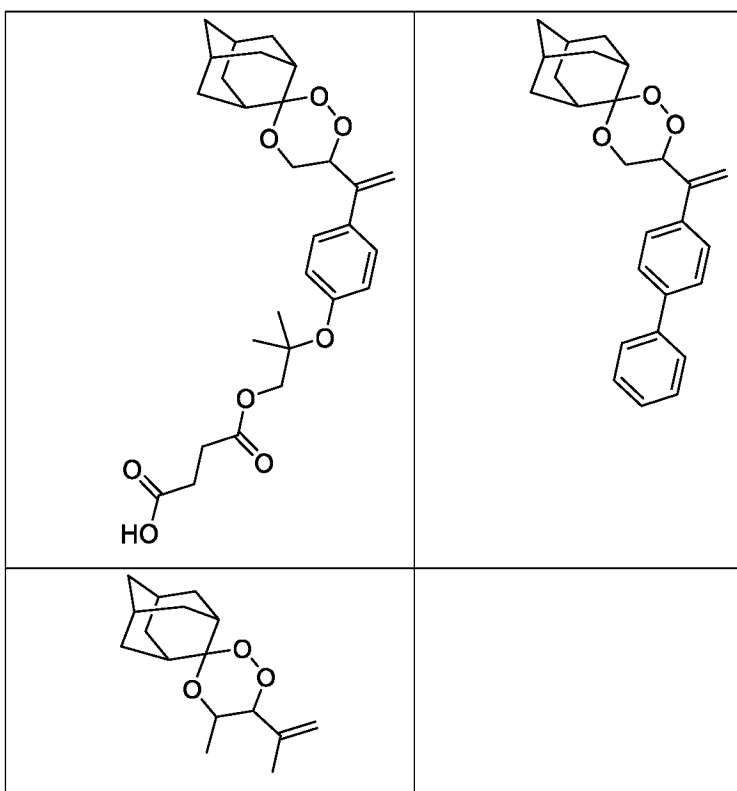
| | |
|--|---|
|  <p>Artemizon</p> |  <p>3-артесанилид</p> |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |





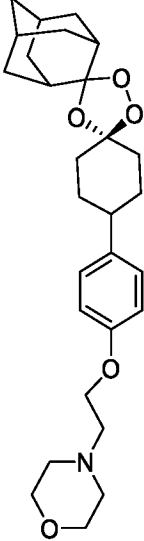
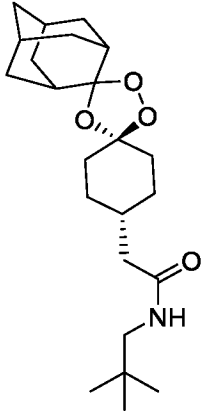
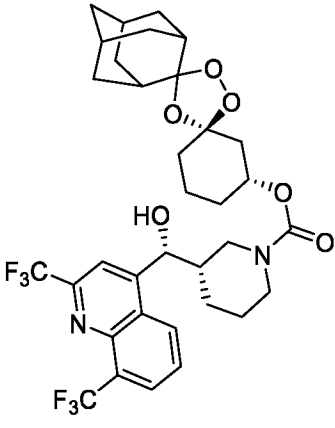
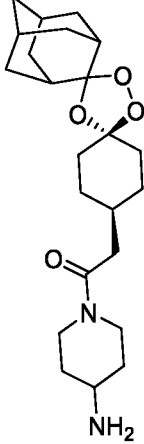
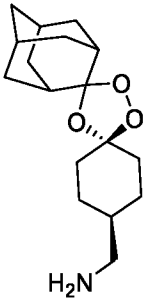
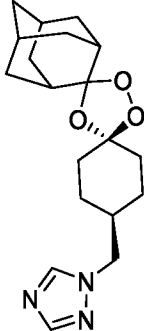
7. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что эндопероксид представляет собой соединение, содержащее 1,2,4-триоксановое кольцо, или его фармацевтически приемлемую соль.

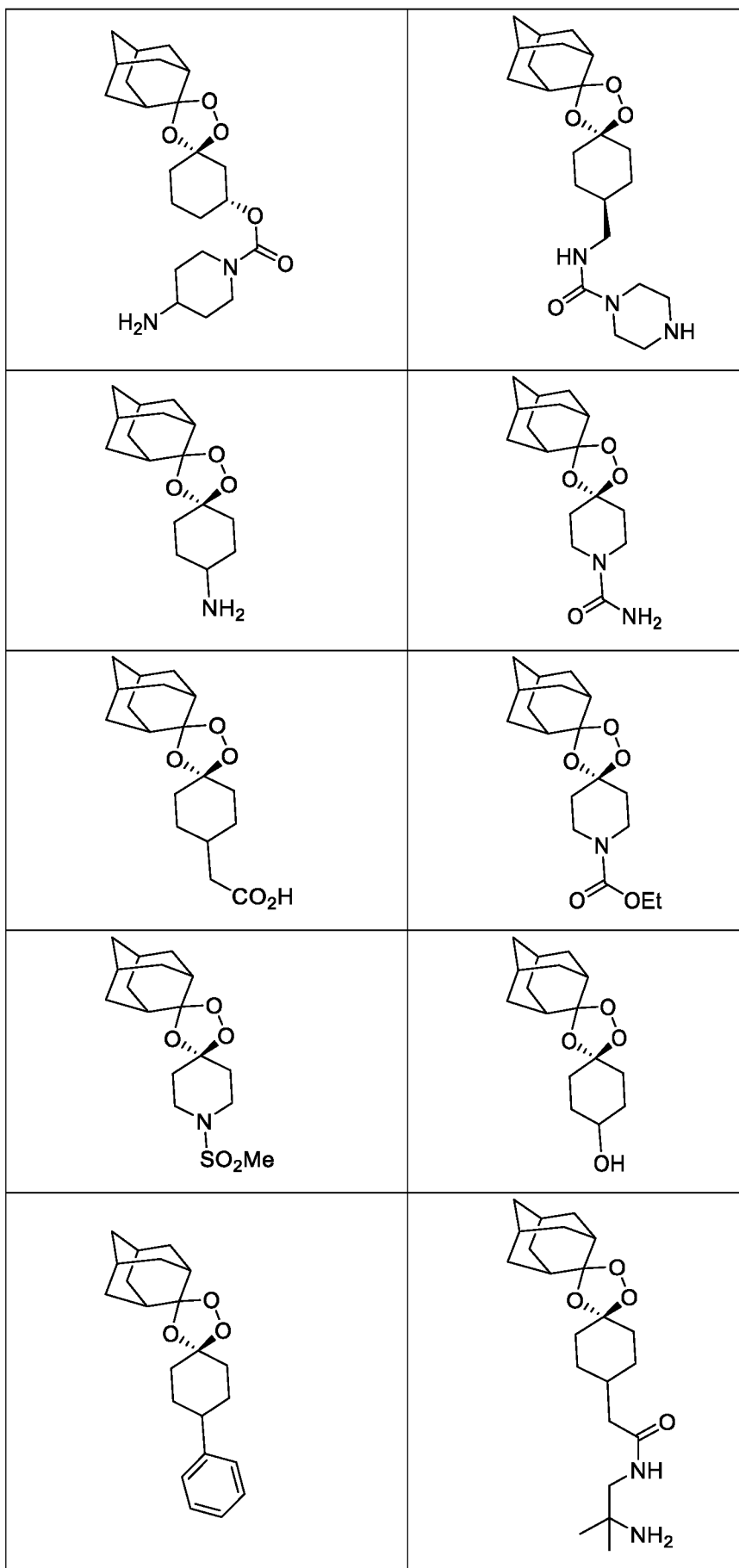
8. Способ по п. 7, отличающийся тем, что соединение, содержащее 1,2,4-триоксановое кольцо, или его фармацевтически приемлемая соль выбраны из следующей таблицы:

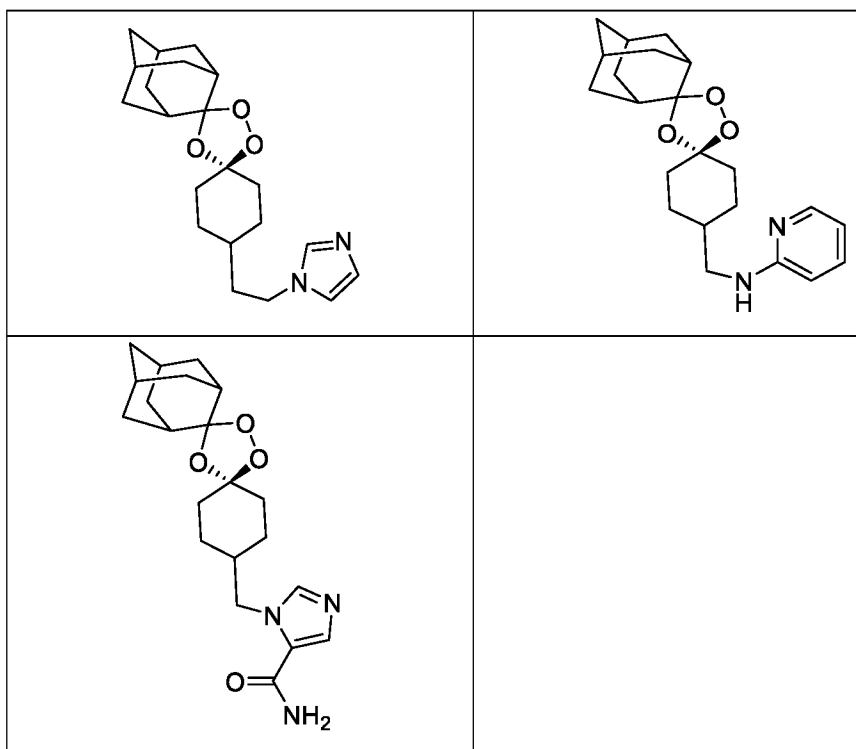


9. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что эндопероксид представляет собой соединение, содержащее 1,2,4-триоксолановое кольцо, или его фармацевтически приемлемую соль.

10. Способ по п. 9, отличающийся тем, что соединение, содержащее 1,2,4-триоксолановое кольцо, или его фармацевтически приемлемая соль выбраны из следующей таблицы:

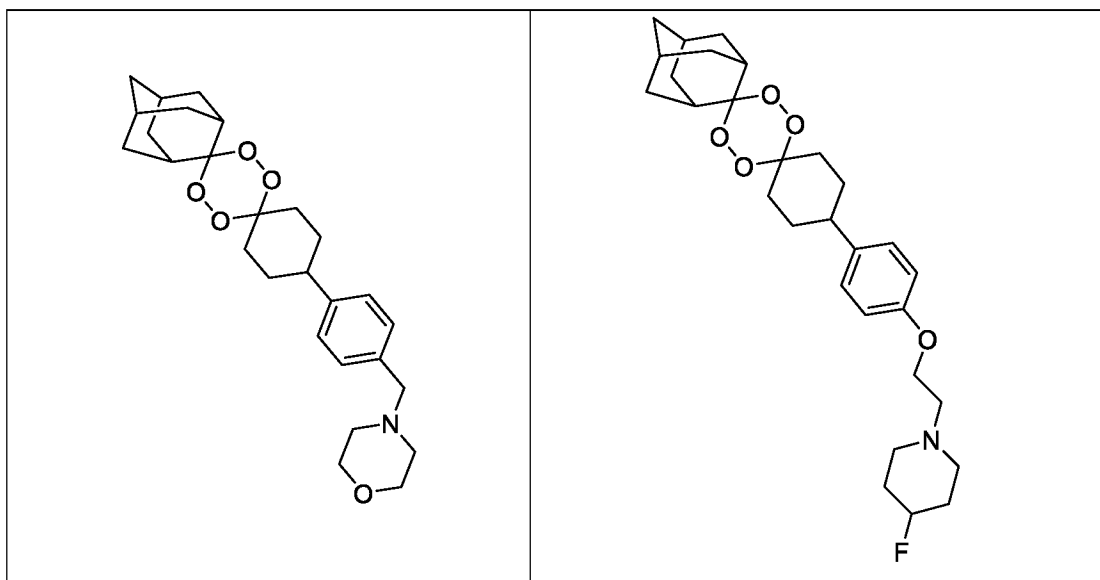
| | |
|---|--|
|  <p>артефеномель</p> |  |
|  |  |
|  |  |

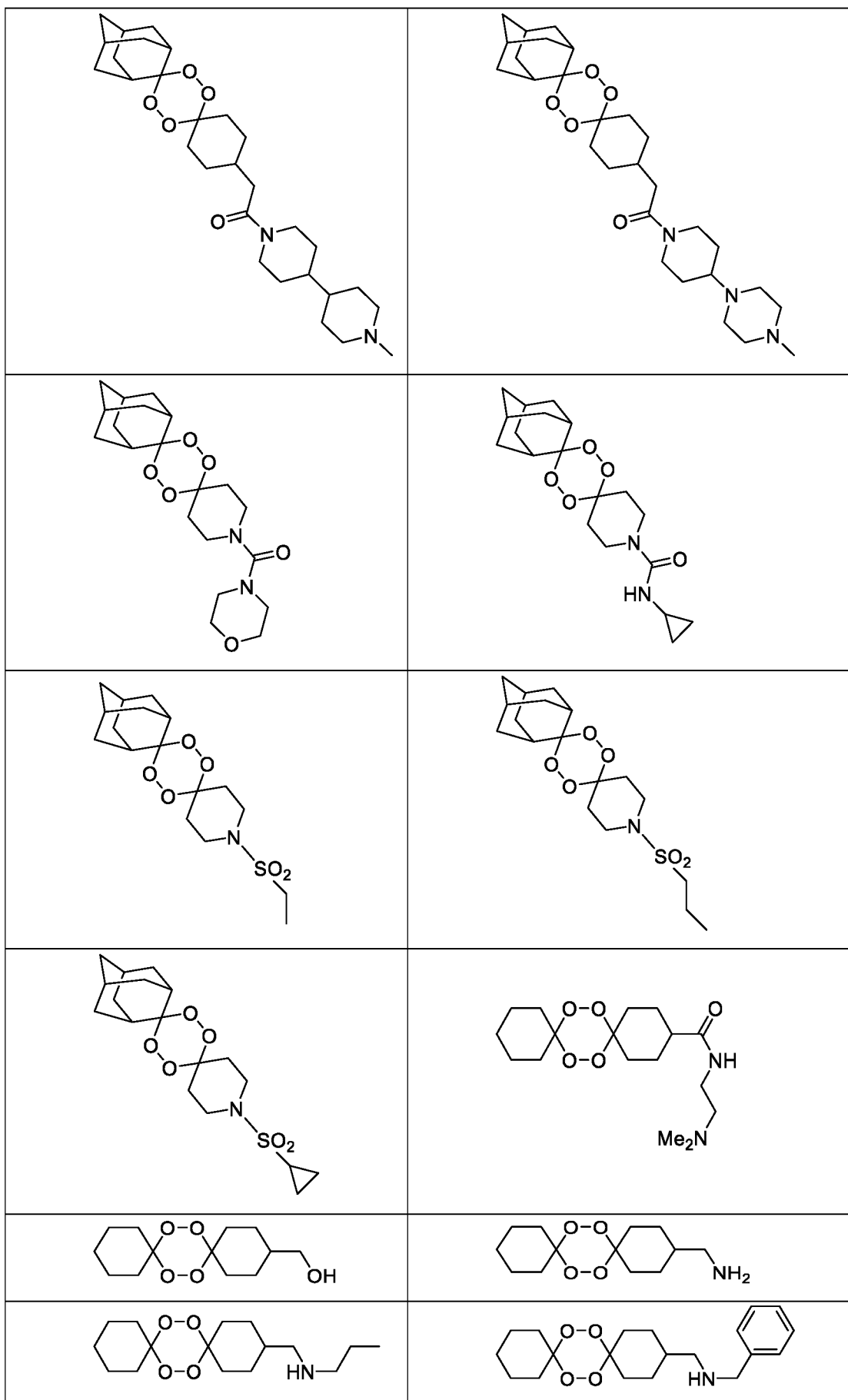


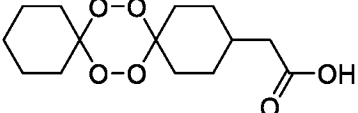
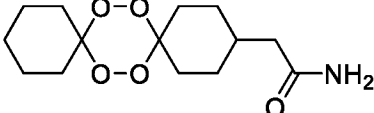
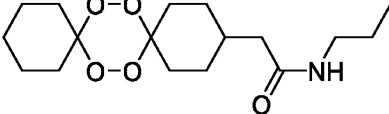
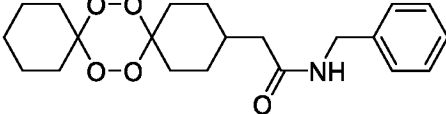
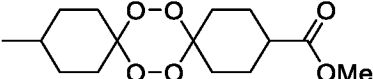
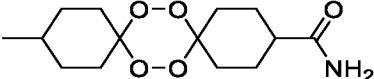
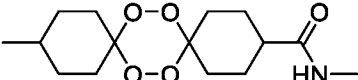
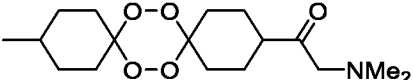
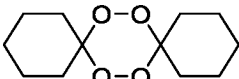
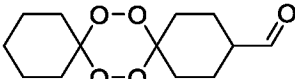


11. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что эндопероксид представляет собой соединение, содержащее 1,2,4,5-тетраоксановое кольцо, или его фармацевтически приемлемую соль.

12. Способ по п. 11, отличающийся тем, что соединение, содержащее 1,2,4,5-тетраоксановое кольцо, или его фармацевтически приемлемая соль выбраны из следующей таблицы:



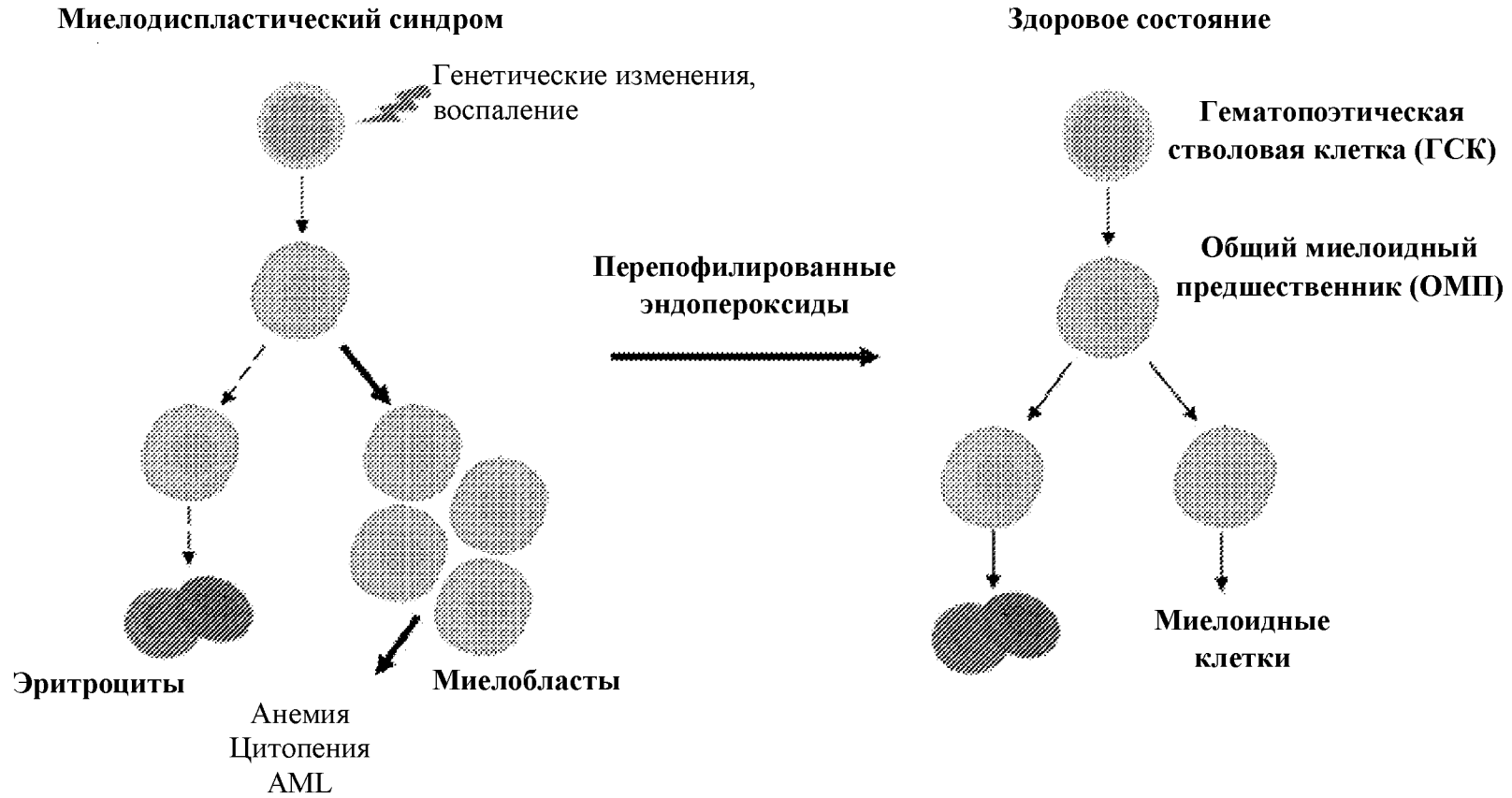


| | |
|---|--|
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |

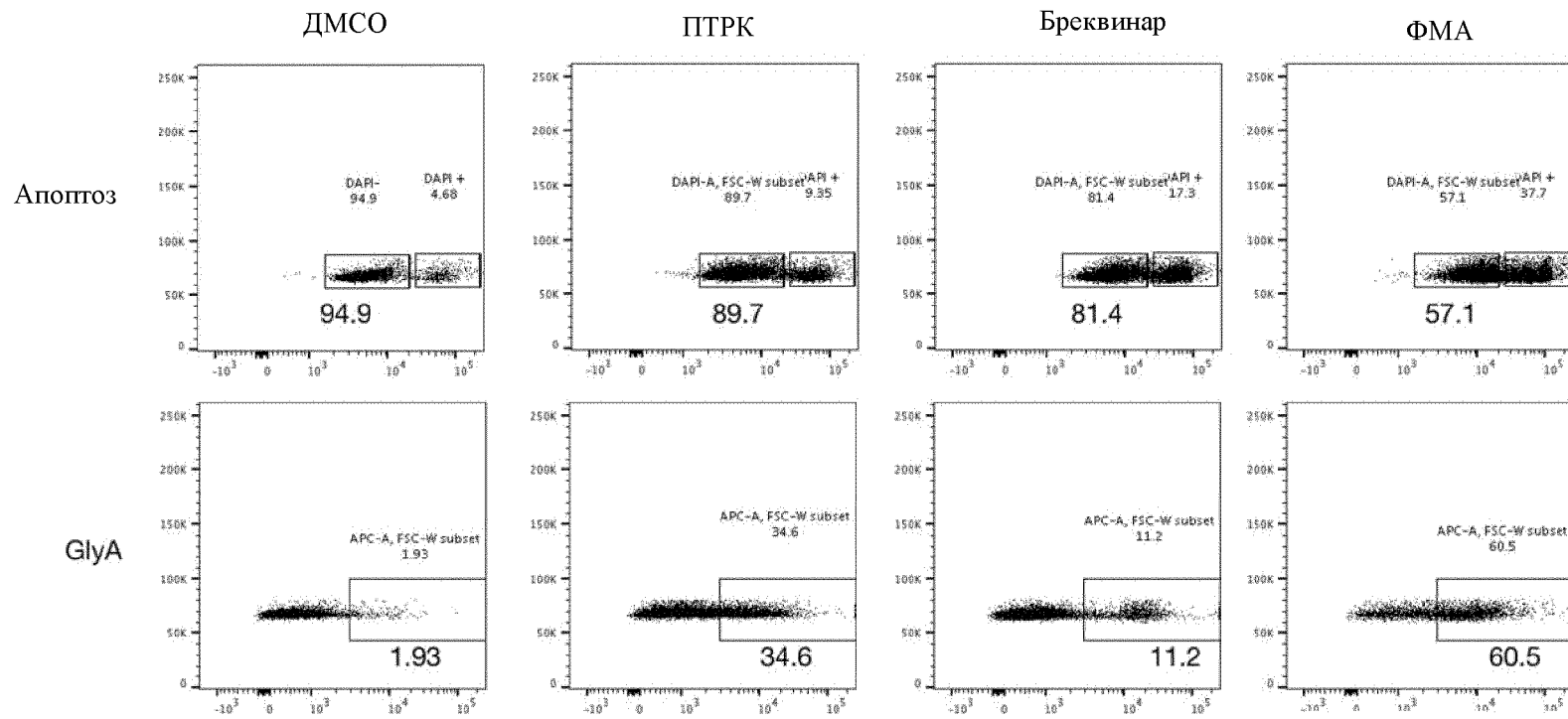
13. Способ по любому из пп. 1-12, отличающийся тем, что MDS представляет собой первичный MDS.

14. Способ по любому из пп. 1-12, отличающийся тем, что MDS представляет собой вторичный MDS.

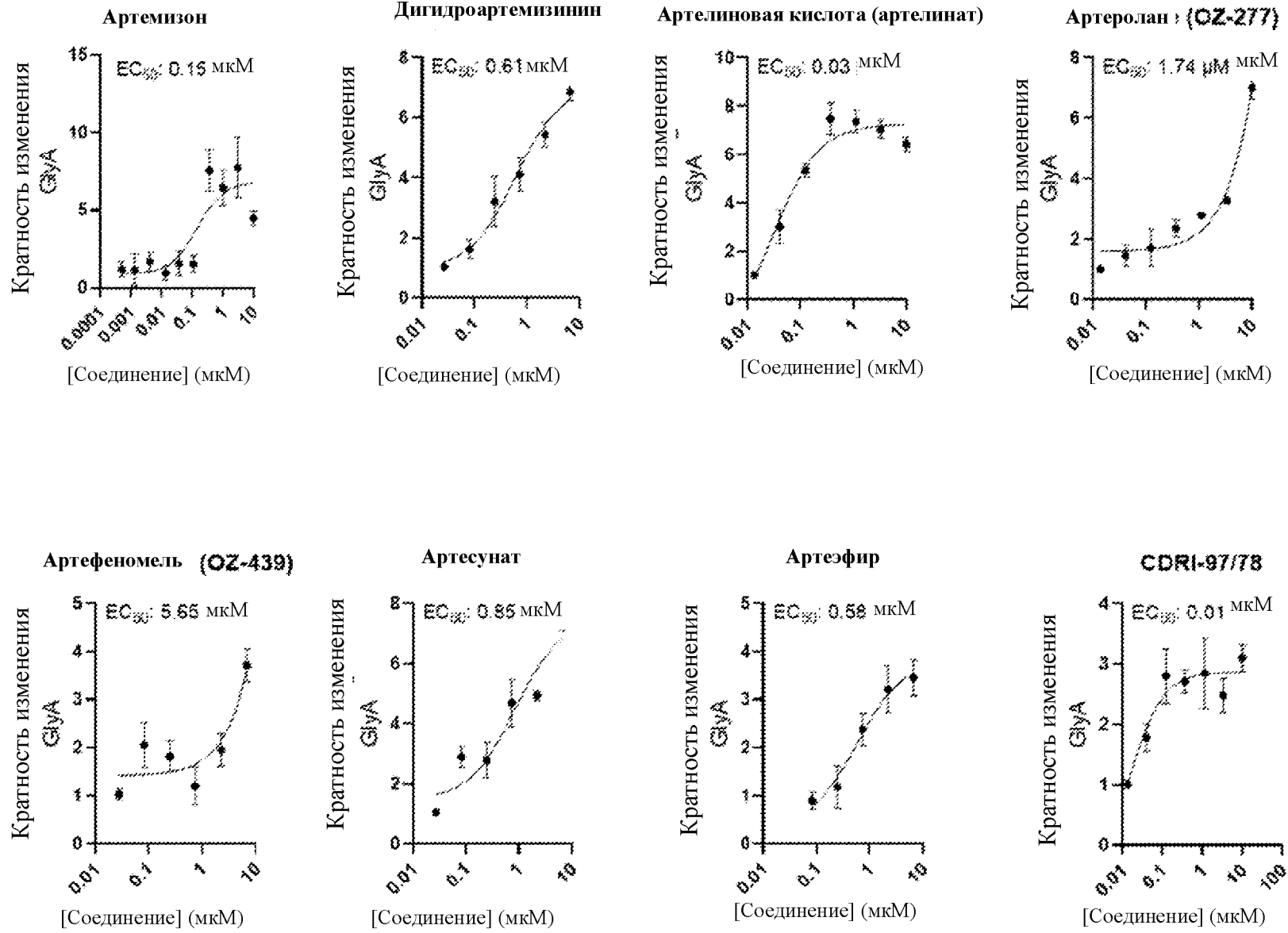
15. Способ по любому из пп. 1-14, отличающийся тем, что MDS представляет собой один или более чем один подтип, выбранный из рефрактерной анемии (RA), рефрактерной анемии с кольцевыми сидеробластами (RARS), рефрактерной цитопении с мультилинейной дисплазией (RCMD), рефрактерной цитопении с мультилинейной дисплазией и кольцевыми сидеробластами (RCMD-RS), рефрактерной анемии с избытком бластов (RAEB), неклассифицированного миелодиспластического синдрома (MDS-U) и MDS, ассоциирующегося с изолированным del(5q).



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3

Фиг. 4А – Фиг. 4С

